

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Ness.) TERHADAP STRUKTUR MIKROANATOMI
HEPAR DAN KADAR GLUTAMAT
PIRUVAT TRANSAMINASE SERUM MENCIT (*Mus musculus* L.)
YANG TERPAPAR DIAZINON

SKRIPSI

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



Oleh
Tri Wulandari
M0499046

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2006

PENGESAHAN

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Ness.) TERHADAP STRUKTUR MIKROANATOMI HEPAR DAN KADAR GLUTAMAT PIRUVAT TRANSAMINASE SERUM MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG TERPAPAR DIAZINON

Oleh

Tri Wulandari

NIM. M0499046

telah dipertahankan di depan Tim Penguji

pada tanggal 16 Januari 2006

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta,

2006

Penguji III/Pembimbing I

Penguji I

Dra. Marti Harini
NIP. 131 472 293

Artini Pangastuti, M.Si.
NIP. 132 257 941

Penguji IV/Pembimbing II

Penguji II

Shanti Listyawati, M.Si.
NIP. 132 169 256

Tjahjad Purwoko, M.Si.
NIP. 132 262 264

Mengesahkan:

Dekan FMIPA

Ketua Jurusan Biologi

Drs. Marsusi, M.S.
NIP. 130 906 776

Drs. Wiryanto, M.Si.
NIP. 131 124 613

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.

Surakarta, Januari 2006

Tri Wulandari
M0499046

ABSTRAK

Tri Wulandari. 2005. PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Ness.) TERHADAP STRUKTUR MIKROANATOMI HEPAR DAN KADAR GLUTAMAT PIRUVAT TRANSAMINASE SERUM MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG TERPAPAR DIAZINON.

Diazinon merupakan pestisida yang sering digunakan petani untuk memberantas serangga yang merupakan musuh bagi tanaman. Penggunaan yang berlebihan dapat mengakibatkan tertinggalnya residu diazinon dalam produk pertanian. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan tubuh, terutama hepar.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap struktur mikroanatomi hepar dan kadar glutamat piruvat transaminase (GPT) serum mencit (*Mus musculus* L.) yang terpapar diazinon.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan lima macam perlakuan. Perlakuan masing-masing kelompok adalah larutan CMC 1% (kontrol plasebo), larutan diazinon 40 mg/Kg BB (kontrol negatif) dan ekstrak daun sambiloto (EDS) 12,6; 25,2 dan 37,8 mg/Kg BB. Larutan diazinon diberikan selama sepuluh hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian EDS juga selama sepuluh hari. Parameter yang diamati adalah struktur mikroanatomi hepar dan kadar GPT serum mencit. Data dianalisis dengan Analisis Varians (Anava) dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf signifikansi 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EDS pada beberapa tingkat variasi dosis berpengaruh nyata memperbaiki struktur mikroanatomi hepar dan menurunkan kadar GPT serum. Dosis yang memiliki efektivitas tertinggi dalam memperbaiki struktur mikroanatomi hepar dan menurunkan kadar GPT serum mencit adalah dosis 37,8 mg/Kg BB.

Kata kunci: diazinon, struktur mikroanatomia hepar, GPT serum, sambiloto, mencit.

ABSTRACT

Tri Wulandari. 2005. THE EFFECT OF LEAVES *SAMBILOTO* (*Andrographis paniculata* Ness.) EXTRACT ON MICROANATOMIC STRUCTURE OF LIVER AND SERUM GLUTAMATE PYRUVATE TRANSAMINASE LEVEL OF MICE (*Mus musculus* L.) EXPOSED TO DIAZINON.

Diazinon is a pesticide which is often using by farmer to kill insect as the enemy of the plant. The over using of pesticide may result in the remaining of diazinon residue in farming product. This residue can cause the damage of body tissue, especially liver.

The aim of the research were to find out the effect of leaves *sambiloto* (*Andrographis paniculata* Ness.) extract on microanatomic structure of liver and serum glutamate pyruvate transaminase (GPT) level of mice (*Mus musculus* L.) exposed to diazinon.

The research used Complete Random Design with five treatments. The treatment of each group were using CMC 1% (placebo control), diazinon solution 40 mg/Kg BW (negative control) and the leaves *sambiloto* extract 12,6; 25,2 and 37,8 mg/Kg BW. Diazinon solution was given within 10 days and continued with the extract of *sambiloto* leaves also within 10 days. Parameter observed was the microanatomic structure of liver and serum (GPT) level. The data was analyzed of Analysis of Varians (Anova) and continued with DMRT at significance 5%.

The result of the research showed that the giving of the extract of *sambiloto* leaves in some dose variation degree is significantly influential to repair the microanatomic stucture of liver and decrease the serum GPT level. The Extract of *sambiloto* leaves dose having the highest effectiveness to repair the microanatomic structure of liver and to decrease the serum GPT level was 37,8 mg/Kg BW.

Key words: diazinon, microanatomic structure of liver, serum GPT, *sambiloto*, mice.

MOTTO

“Hidup adalah soal keberanian menghadapi tantangan.

Tanpa kita bisa mengerti, tanpa kita bisa menawar.

Terimalah dan hadapilah”

(Soe Hoek Gie)

“Peliharalah perintah Allah, niscaya kamu akan mendapatkan Allah selalu berada di hadapanmu. Ingatlah Allah sewaktu kamu berada dalam kegembiraan, niscaya Allah akan mengingatkanmu sewaktu kamu berada dalam kesulitan. Ketahuilah bahwa sesuatu yang terlepas darimu, maka itu bukanlah bagianmu dan sesuatu yang menjadi bagianmu maka tidak akan terlepas darimu. Ketahuilah bahwa kemenangan itu diperoleh dengan kesabaran, dan kegembiraan itu akan diperoleh setelah bersusah payah, serta setelah kesulitan pasti akan ada kemudahan” (Hadist Nabi)

“Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?”

(QS Ar Rahman: 13)

PERSEMBAHAN

Karya ini kupersembahkan sepenuhnya untuk:

- ❖ (Alm) Ayah atas pelajaran kesabaran dan kasih sayang, yang kini hanya bisa kukenang...kudo'akan...dan selalu kurindukan.

Ya Allah limpahilah ia dengan rahmat dan maghfirah-Mu. Amiin.

- ❖ Ibu atas pelajaran ketegaran. Terima kasih untuk semua pengorbanan.

KATA PENGANTAR

Salah satu tanaman obat yang secara empiris telah digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.). Di luar negeri tanaman ini disebut *King of Bitter* karena rasanya sangat pahit.

Sambiloto secara tradisional telah digunakan sebagai obat penyakit gula, demam, tipes, gatal kulit, obat gigitan ular, antireumatik, sakit kuning, obat peluntur kehamilan, penyakit disentri, diare, radang ginjal akut, peradangan sekitar telinga, hidung dan tenggorokan (THT), radang paru-paru, dan kanker.

Penelitian obat tradisional secara eksperimental sangat diperlukan agar dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dari segi khasiat maupun keamanannya. Penelitian ini mengambil judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus musculus* L.) yang Terpapar Diazinon”. Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi penggalan potensi tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) sebagai bahan obat tradisional dan membuktikan secara ilmiah penggunaan daun sambiloto sebagai obat pada kerusakan hepar.

Surakarta, Januari 2006

Tri Wulandari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Masalah	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. LANDASAN TEORI	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Diazinon	6
a. Sifat kimia dan Fisika Diazinon	6
b. Kegunaan Diazinon	7
c. Mekanisme Penghambatan Diazinon Terhadap Enzim Kolinesterase	7
d. Batas Maksimal Residu Diazinon	8
2. Mekanisme Toksisitas Senyawa Xenobiotik	8
3. Hepar	10
a. Struktur Mikroanatomi Hepar	10

b.	Fungsi Hepar	11
c.	Degenerasi Sel Hepar	12
d.	Enzim yang Menandai Kerusakan pada Hepar	14
4.	Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) Serum	14
a.	Transaminase	14
b.	Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) Serum	17
5.	Tanaman Sambiloto	18
a.	Deskripsi dan Distribusi	18
b.	Khasiat dan kandungan Kimia	19
B.	Kerangka Pemikiran	20
C.	Hipotesis	22
BAB III. METODE PENELITIAN		23
A.	Waktu dan Tempat Penelitian	23
B.	Alat dan Bahan	23
C.	Cara Kerja	25
D.	Analisis Data	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		32
A.	Struktur Mikroskop Anatomi Hepar	33
B.	Kadar GPT Serum	46
BABV. KESIMPULAN DAN SARAN		54
A.	Kesimpulan	54
B.	Saran	55
DAFTAR PUSTAKA		56
LAMPIRAN		62
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH		66
RIWAYAT HIDUP PENULIS		69

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kelompok Perlakuan	27
Tabel 2. Hasil Pengamatan Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Masing-masing Perlakuan Percobaan	34
Tabel 3. Rata-rata Kadar GPT Serum Mencit (Mus Musculus L.) Setelah Pemberian Masing-Masing Perlakuan Percobaan	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kimia Diazinon	6
Gambar 2. Struktur Mikroanatomi Hepar	11
Gambar 3. Reaksi Transaminasi	15
Gambar 4. Mekanisme Katabolisme Asam Amino	15
Gambar 5. Gugus Prostetik Transaminase	16
Gambar 6. Piruvat Transaminase Mengubah Asam Piruvat Menjadi Alanin	17
Gambar 7. Skema Kerangka Pemikiran	21
Gambar 8. Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan CMC 1% dengan perbesaran 400 x	35
Gambar 9. Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dengan perbesaran 400x	36
Gambar10. Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dan dilanjutkan EDS 12,6 mg/Kg BB dengan perbesaran 400x	40
Gambar 11. Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dan dilanjutkan EDS 25,2 mg/Kg BB dengan perbesaran 400x	41
Gambar 12. Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dan dilanjutkan EDS 37,8 mg/20 gr BB dengan perbesaran 400x	42
Gambar 13. Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan CMC 1% dengan perbesaran 100 x	44

Gambar 14.	Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dengan perbesaran 100x	44
Gambar 15.	Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dan dilanjutkan EDS 12,6 mg/Kg BB dengan perbesaran 100x	45
Gambar 16.	Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dan dilanjutkan EDS 25,2 mg/Kg BB dengan perbesaran 100 x	45
Gambar 17.	Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit Setelah Pemberian Larutan diazinon 40 mg/Kg BB dan dilanjutkan EDS 37,8 mg/Kg BB dengan perbesaran 100x	46
Gambar 18.	Grafik Rata-rata Kadar GPT serum Mencit Setelah Pemberian Masing-masing Perlakuan	50
Gambar 19.	Struktur Kimia Andrografolid	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tabulasi Kadar GPT Serum Mencit	62
Lampiran 2. Uji Anava dan DMRT Kadar GPT Mencit	63
Lampiran 3. Metode Parafin	64

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Dampak negatif penggunaan pestisida beberapa tahun belakangan menjadi permasalahan yang sering dibicarakan. Zat kimia penyusun pestisida seringkali dianggap berbahaya bagi makhluk hidup. Pada manusia, pestisida dalam tubuh tidak hanya berasal dari paparan zat tersebut secara langsung, tetapi juga berasal dari residu pestisida yang terkandung dalam bahan makanan. Hal ini disebabkan penggunaan pestisida seringkali melebihi batas yang telah ditetapkan, dengan harapan dapat meningkatkan produksi pertanian.

Salah satu jenis pestisida yang sering digunakan adalah diazinon. Diazinon merupakan pestisida yang termasuk golongan organofosfat. Di Indonesia, penggunaan pestisida golongan ini telah dilarang sejak 1 Mei 1997 (Ngabekti dan Isnaeni, 2000). Pelarangan ini disebabkan efek negatif yang ditimbulkan diazinon pada makhluk hidup. Organofosfat merupakan senyawa penghambat kolinesterase yang sangat efektif, sehingga dapat mengakibatkan gangguan pada transmisi sistem saraf (Sriyono, 1992; Paramita dan Moeljopawiro, 1997; Gandhi dan Snedeker, 1999). Pada klimaksnya, efek ini dapat mengakibatkan keracunan dan berakhir dengan kematian.

Laporan kesehatan di R.S. Ciptomangunkusumo Jakarta pada tahun 1996-1997 menemukan bahwa organofosfat merupakan zat yang menyebabkan intoksikasi 24,6% dari seluruh kasus keracunan (Widodo dkk., 1999 dalam Zein dkk., 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Ngabekti (1998), menunjukkan

bahwa ditemukannya residu diazinon pada sayuran kubis, selada, dan tomat di pasar di kota Semarang sebesar $6,9 \times 10^{-3}$ - $5,91 \times 10^{-2}$ ppm, walaupun masih di bawah batas maksimal residu (BMR) sebesar $7,5 \times 10^{-2}$ ppm (Ngabekti dan Isnaeni, 2000), paparan residu pestisida dalam produk pertanian tetap harus diwaspadai karena efek negatif yang ditimbulkannya.

Hepar merupakan organ yang bertanggungjawab mendetoksifikasi zat-zat xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh. Pada kasus masuknya zat toksik dalam tubuh organ hepar merupakan organ yang pertama terdeteksi, mengalami kerusakan. Pada tikus, pemberian diazinon sebesar 40, 50, dan 60 mg/kg BB selama 5 hari terbukti menyebabkan kerusakan struktur mikroanatomi hepar berupa kongesti, piknosis, dan nekrosis (Suarini dkk. 1996 dalam Ngabekti dan Isnaeni, 2000).

Selain melalui pengamatan struktur mikroanatomi, kerusakan hepar dapat dideteksi dengan mengukur kadar glutamat piruvat transaminase (GPT) serum. GPT merupakan enzim yang mengkatalisis proses transaminasi dalam metabolisme asam amino. GPT paling banyak terdapat di dalam hepar. Kenaikan kadar GPT dalam serum disebabkan oleh sel-sel hepar yang mengalami nekrosis atau hancur. GPT dikeluarkan kemudian masuk ke dalam peredaran darah. Menurut Noer (2002) kenaikan kadar transaminase serum lebih dari 10 kali nilai normal tertinggi mengindikasikan nekrosis hepatoselular akut.

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) telah lama digunakan secara tradisional untuk mengobati penyakit pada hepar (Heyne, 1975; Dalimartha, 1999; Date *et al.*, 1999). Sambiloto terbukti dapat mengobati kerusakan hepar tikus yang

ditimbulkan oleh heksaklorosiklon (Trivedi dan Rawal, 2000) dan parasetamol (Udupa *et al.*, 2000). Bhattacharya *et al.* (2003) telah menguji khasiat formula polimer *Hilimov*, yang salah satu komponennya adalah sambiloto, terhadap kerusakan hepar tikus yang diinduksi karbontetraklorida (CCl_4). Khasiat pengobatan sambiloto pada hepar yang mengalami kerusakan diduga karena kandungan senyawa andrografolidnya (Khan, 2001).

Indonesia merupakan negara yang sangat berpotensi mengembangkan sumber daya alam untuk mencari alternatif pengobatan secara alami. Potensi ini disebabkan Indonesia memiliki biodiversitas yang sangat kaya. Walaupun secara empiris tanaman sambiloto sering digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, penelitian lebih lanjut mengenai khasiat tanaman ini masih harus dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian secara eksperimental khasiat sambiloto terhadap kerusakan hepar yang disebabkan diazinon.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (EDS) (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap kerusakan struktur mikroanatomi hepar mencit (*Mus musculus* L.) yang terpapar diazinon?
2. Bagaimana pengaruh pemberian EDS terhadap kadar glutamat piruvat transaminase (GPT) serum mencit yang terpapar diazinon?

3. Berapa dosis pemberian EDS yang dapat berpengaruh nyata terhadap perbaikan kerusakan struktur mikroanatomi hepar dan kadar GPT serum mencit yang terpapar diazinon?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang dapat disimpulkan berdasarkan perumusan masalah di atas adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian EDS terhadap kerusakan struktur mikroanatomi hepar mencit yang terpapar diazinon.
2. Mengetahui pengaruh pemberian EDS terhadap kadar GPT serum mencit yang terpapar diazinon.
3. Mengetahui besarnya dosis pemberian EDS yang berpengaruh nyata terhadap perbaikan kerusakan struktur mikroanatomi hepar dan kadar GPT serum mencit yang terpapar diazinon.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan bukti ilmiah tentang penggunaan daun sambiloto sebagai obat yang dapat memperbaiki kerusakan hepar.
2. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi penggunaan daun sambiloto sebagai obat kerusakan hepar oleh zat-zat xenobiotik.

BAB II

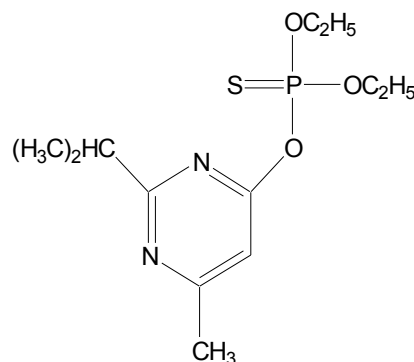
LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Diazinon

a. Sifat Kimia dan Fisika Diazinon

Diazinon merupakan pestisida golongan organofosfat. Nama generik diazinon adalah O,O dietil O-2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il-fosforotionat (Worthing,1991). Rumus kimia senyawa ini adalah $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ (Montgomery, 1993) dengan struktur kimia seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia diazinon (WHO, 1998)

Diazinon berupa cairan berwarna coklat kemerahan, berat molekul 304,4 dengan titik didih larutan $83-84^{\circ}C/2 \times 10^{-4}$ mmHg (WHO, 1998). Pestisida ini dapat larut dengan sejumlah pelarut organik seperti minyak tanah dan air (Ramulu, 1979). Dalam air diazinon memiliki kelarutan yang tinggi, yaitu sekitar 40 ppm pada air dengan suhu $20^{\circ}C$ (Ramulu, 1979). Senyawa ini berbau menyengat, dapat mengalami oksidasi dan dekomposisi pada suhu tinggi. Diazinon dapat terhidrolisis dengan cepat pada kondisi asam kuat dan

basa. Pada kondisi netral hidrolisis berjalan lambat (Garner, 1961; McEwen dan Stephenson, 1979). Oksidasi sinar UV dapat menyebabkan penurunan derajat toksisitasnya (Soedarmo, 1988).

b. Kegunaan Diazinon

Diazinon pertama kali didaftarkan sebagai pestisida, di Amerika Serikat, pada tahun 1956 (ASTDR, 1996). Di negara ini selain digunakan di bidang pertanian diazinon juga digunakan secara luas di perkantoran, rumah dan tempat layanan publik lainnya. Hal ini karena diazinon mampu memberantas berbagai jenis insekta seperti lalat, nyamuk, kumbang, kecoa, kepinding, kutu, dan laba-laba (WHO, 1998). Di Indonesia diazinon dikenal dengan merk dagang Basudin 60, Nilvar, Brantasan, Mibas, dan Neocidol. Jenis pestisida ini digunakan sebagai insektisida dan nematisida melawan hama dan penyakit yang menyerang sayuran dan buah-buahan (Sastroutomo, 1992).

c. Mekanisme Penghambatan Diazinon terhadap Kolinesterase

Ikatan $P=O$ pada senyawa organofosfat mempunyai daya tarik yang sangat kuat, terhadap gugus hidroksil kolinesterase. Hal ini mengakibatkan kolinesterase terikat sehingga tidak mampu melakukan fungsinya. Fungsi enzim ini adalah menghidrolisis asetilkolin menjadi asetil dan kolin. Kolin merupakan neurotransmitter yang berperan utama dalam proses penghantaran impuls saraf (Cassaret *and* Doull, 1975). Asetilkolin yang tidak dapat terhidrolisis akan mengakibatkan tertundanya penghantaran impuls sehingga mengakibatkan salivasi yang berlebihan, diare, kejang-kejang, kelumpuhan, dan berakhir dengan kematian (Garner, 1961).

d. Batas Maksimal Residu Diazinon

Pemasukan diazinon lewat residu bahan makanan per hari yang diperbolehkan oleh FAO dan WHO adalah sebesar 2×10^{-3} mg/Kg BB. Enviromental Protection Agency's (EPA) membatasi residu pestisida maksimal pada gandum, buah-buahan atau kacang-kacangan sebesar 1×10^{-1} ppm (Anonim, 1989).

2. Mekanisme Toksisitas Senyawa Xenobiotik

Zat senyawa xenobiotik dapat berupa obat, racun, zat organik atau logam berat, dan agen kimia atau fisika yang sebenarnya tidak diperlukan oleh tubuh. Zat berbahaya ini dapat masuk ke dalam tubuh melalui berbagai jalan, yaitu kontak langsung melalui kulit, melalui saluran pernafasan, melalui saluran pencernaan, secara eksperimental disuntikkan atau disinari, kemudian dibawa sistem peredaran darah sampai ke dalam jaringan (Howland, 1975).

Menurut Cohen *et al.*, 2001 dalam Widyaningrum dan Wijaya (2004) toksisitas senyawa xenobiotik dapat dijelaskan melalui 2 mekanisme, yaitu mekanisme antaraksi kovalen dan mekanisme antaraksi nonkovalen. Mekanisme antaraksi kovalen terjadi karena senyawa xenobiotik berikatan kovalen dengan makromolekul sel, seperti DNA, RNA atau protein, sedangkan mekanisme antaraksi nonkovalen terjadi karena pembentukan radikal bebas oleh senyawa xenobiotik atau metabolitnya.

Ikatan antar senyawa xenobiotik dengan makromolekul akan mengakibatkan terganggunya fungsi seluler, salah satunya pada pengaturan permeabilitas membran plasma (Murray *et al.*, 1999). Sodeman dan Soedeman

(1991) menyatakan bahwa perubahan pada membran sel akibat senyawa xenobiotik dapat mengakibatkan terjadinya kenaikan permeabilitas membran sel sehingga kerentanan sel meningkat dan membran sel mudah rusak.

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital paling luar (Halliwell dan Gutteridge, 1984 dalam Lestariana, 2003). Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas secara kimiawi sangat reaktif. Akibatnya, dapat merusak berbagai komponen sel seperti protein, lipid dan nukleotida (Gitawati, 1995).

Pengaruh radikal bebas pada protein akan menyebabkan fragmentasi dan *cross-linking*, sehingga menyebabkan terjadinya proteolisis. Jika mengenai lipid, radikal bebas akan menyebabkan reaksi peroksidasi yang dapat mencetuskan proses otokatalitik yang akan menjalar sampai jauh dari tempat asal reaksi semula, sedangkan pada nukleotida mengakibatkan terjadinya perubahan struktur DNA atau RNA yang menyebabkan terjadinya mutasi atau sitotoksitas (Gitawati, 1995).

Di dalam membran sel, radikal bebas akan melakukan peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak takjenuh majemuk. Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain dengan mengubah fluiditas, struktur dan fungsi membran (Gitawati, 1995). Mitokondria terserang dan melepaskan ribosom dari retikulum endoplasma (RE) akibat terjadinya gangguan dalam proses fosforilasi oksidatif di dalam membran mitokondria. Pemasukan energi yang

diperlukan untuk memelihara fungsi dan struktur RE terhenti, sintesis protein berkurang, sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida dan terjadi degenerasi lemak pada sel hepar (Koeman, 1987).

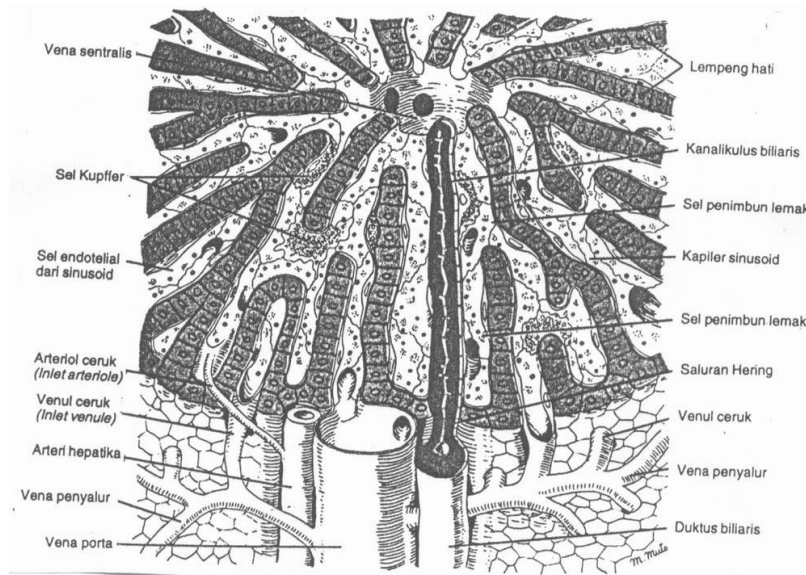
3. Hepar

a. Struktur Mikroanatomi Hepar

Hepar terdiri dari 2 lobus utama, yaitu lobus kiri dan lobus kanan. Tiap lobus terdiri atas sekitar 100.000 lobulus. Lobulus merupakan unit struktural dan unit fungsional hepar. Secara struktural lobulus berbentuk heksagonal dan dipisahkan dengan lobulus lain oleh selapis jaringan ikat. Lobulus tersusun atas lempeng sel hepatosit yang berderet radier mengelilingi vena sentralis. Dari tepian lobulus lempeng sel hepatosit beranastomosis secara bebas membentuk struktur mirip labirin. Masing-masing lempeng sel hepatosit membentuk lapisan setebal 1 atau 2 sel sehingga menyerupai susunan batu bata pada dinding (Guyton, 1994; Lesson dan Lesson, 1996; Junqueira *et al.*, 1998; Martini dan Bartholomew, 2000).

Diantara lempeng-lempeng sel hepar terdapat sinusoid. Sinusoid adalah pembuluh darah yang terdiri atas sel-sel endotel yang tersusun secara tidak teratur. Selain dikelilingi oleh sel-sel endotel sinusoid juga berisi sel-sel Kupffer. Sel Kupffer adalah sel makrofag yang berfungsi fagositosis. Darah memasuki sinusoid dari percabangan vena porta hepatic dan arteri hepatica. Ketika melewati hepar material diserap atau disekresikan kembali ke peredaran darah. Darah kemudian meninggalkan sinusoid dan memasuki vena sentral dari lobulus. Vena sentral lalu bergabung membentuk vena hepatica

(Guyton, 1994; Lesson dan Lesson, 1996; Junqueira *et al.*, 1998; Martini dan Bartholomew, 2000). Untuk lebih jelas, struktur mikroanatomi hepar disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur mikroanatomi Hepar (Junqueira dan Carneiro, 1998).

b. Fungsi Hepar

Hepar merupakan organ tubuh yang paling serba guna. Menurut Sloane (1994) fungsi hepar adalah sebagai berikut:

- 1). Sekresi. Hepar memproduksi empedu yang berguna dalam emulsifikasi dan absorpsi lemak.
- 2). Metabolisme. Hepar memiliki peranan penting dalam metabolisme protein, lemak dan karbohidrat.
 - i). Hepar berperan utama dalam mengatur keseimbangan gula darah. Hepar menyimpan glukosa menjadi glikogen dan mengubahnya kembali menjadi glukosa ketika diperlukan oleh tubuh.

- ii). Hepar memecah protein yang sudah tidak diperlukan tubuh. Hepar membentuk urea sebagai hasil akhir metabolisme protein.
 - iii). Hepar menyintesis lemak dari karbohidrat dan protein, dan terlibat dalam proses penyimpanan dan pemakaian lemak.
 - iv). Hepar menyintesis protein plasma dan faktor penggumpal darah. Hepar juga menyintesis bilirubin dari perombakan hemoglobin dan mengeluarkannya bersama empedu.
 - v). Hepar menyintesis materi penyusun membran sel seperti lipoprotein, kolesterol dan fosfolipid.
- 3). Penyimpanan. Hepar menyimpan beberapa mineral, seperti besi dan tembaga, serta vitamin yang larut dalam lemak, yaitu vitamin A, D, E, dan K. Hepar juga menyimpan toksin dan obat-obatan yang tidak dapat dipecahkan atau dieksresikan oleh tubuh.
- 4). Detoksifikasi. Hepar dapat mendetoksifikasi toksin dan berbagai obat-obatan. Proses ini dilakukan melalui oksidasi, metilasi, dan konjugasi.
- 5). Produksi Panas. Banyaknya aktivitas kimiawi dalam hepar membuatnya berperan sebagai sumber utama panas tubuh, terutama ketika tubuh dalam keadaan istirahat atau tidur.
- 6). Penyimpanan Darah. Hepar adalah reservoir darah yang dihasilkan dari jantung dan limpa serta mengatur volume darah yang diperlukan oleh tubuh.

c. Degenerasi Sel Hepar

Degenerasi sel adalah perubahan struktur sel normal sebelum terjadi kematian sel (Spector dan Spector, 1993). Menurut Anderson (1980) degenerasi sel meliputi:

1). Degenerasi Hidropik

Fase ini ditandai dengan adanya vakuola-vakuola yang berisi zat yang menyerupai cairan dalam sel. Adanya vakuola membuat sitoplasma tidak terisi sempurna. Sel umumnya lebih besar, sinusoid hepar tampak lebih sempit bila dibandingkan dengan keadaan normal. Degenerasi ini bersifat reversibel (Himawan, 1994).

2). Degenerasi Lemak

Degenerasi lemak ditandai dengan adanya vakuola lemak intrasitoplasmik yang disebabkan oleh gangguan metabolik dan defisiensi faktor-faktor lipolitik yang penting. Fase terakhir dari degenerasi lemak adalah sel hepar tampak berisi globuli lemak yang besar sehingga nukleus terdesak ke tepi sel (Anderson, 1980).

3). Nekrosis

Nekrosis adalah perubahan morfologi (kematian) sel hepar atau jaringan hepar diantara sel yang masih hidup. Tahapan nekrosis berkaitan dengan tipe perubahan inti. Perubahan itu adalah piknosis, karyoreksis dan karyolisis. Pada piknosis, inti sel menyusut dan tampak adanya "awan gelap". "Awan gelap" ini dikarenakan kromatin yang memadat. Pada karyoreksis terjadi penghancuran inti dengan meninggalkan pecahan-

pecahan yang tersebar di dalam sel. Sedangkan pada saat karyolisis inti menjadi hilang (lisis) sehingga pada pengamatan tampak sebagai sel yang kosong (Price dan Wilson, 1984). Menurut Mangunsudirdjo dkk. (2001) nekrosis sel disebabkan oleh dua hal yaitu proses digesti oleh enzim sel dan denaturasi protein.

d. Enzim yang Menandai Kerusakan pada Hepar

Hepar yang mengalami kerusakan dapat ditandai dengan kadar enzim hepar yang meningkat dalam darah. Hal ini disebabkan sel parenkim hepar yang rusak mencurahkan isi sitoplasmanya ke dalam aliran darah (Wijaya, 1990). Oleh karena itu, meningkatnya aktivitas enzim-enzim hepar dalam darah dapat dijadikan indikator adanya gangguan pada sel hepar (Nemesanszky *et al.*, 1996).

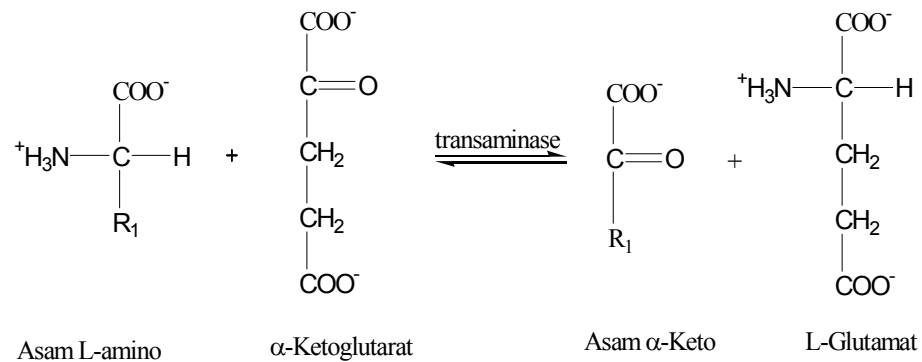
Diantara enzim-enzim hepar, GPT lebih sering digunakan untuk menilai adanya kerusakan parenkim hepar karena konsentrasi enzim ini relatif lebih banyak pada jaringan hepar (Abubakar, 1985).

4. Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) Serum

a. Transaminase

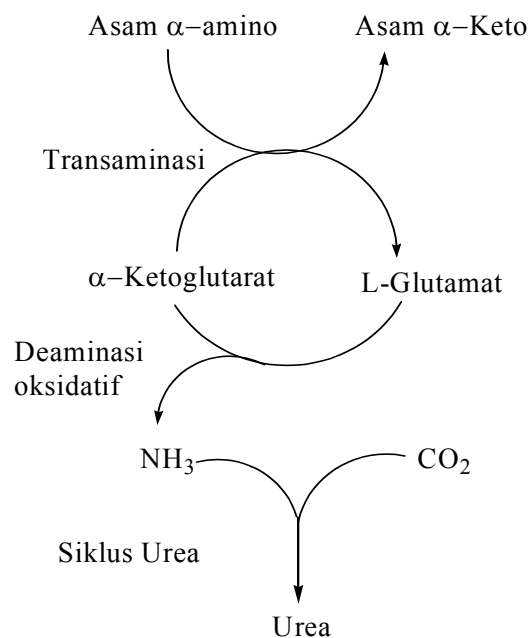
Transaminase atau dikenal pula sebagai aminotransferase, adalah enzim yang mengkatalisis terjadinya transaminasi (Amstrong, 1995; Murray *et al.*, 1999). Transaminasi adalah proses pemindahan gugus α -amino dari asam L-amino ke atom karbon α pada α -ketoglutarat (Lehninger, 1982; Murray *et al.*, 1999). Pada reaksi ini α -ketoglutarat bertransformasi menjadi asam amino dan asam L-amino mengalami konversi menjadi asam α -ketoglutarat (Lehninger,

1982; Murray *et al.*, 1999; Horton *et al.*, 2002). Reaksi transaminasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi transaminasi (Lehninger, 1982).

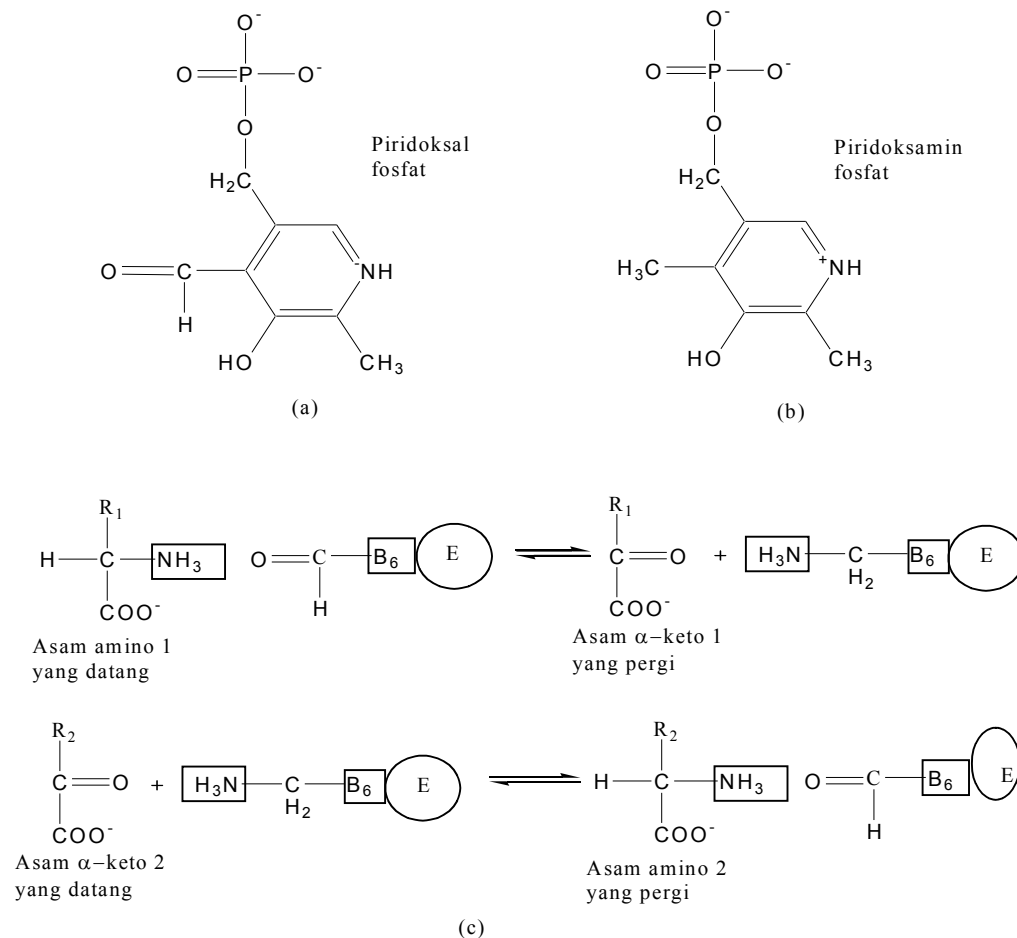
Sebagian besar metabolisme asam amino melibatkan proses transaminasi (Murray *et al.*, 1999; Horton *et al.*, 2002). Ikhtisar metabolisme asam amino yang melibatkan transaminasi ditunjukkan oleh Gambar 4.



Gambar 4. Mekanisme katabolisme asam amino (Murray *et al.*, 1999).

Tujuan keseluruhan transaminasi adalah mengumpulkan gugus amino dari berbagai asam amino dalam satu bentuk asam amino yaitu L-glutamat. L-glutamat kemudian digunakan dalam biosintesis banyak asam amino lainnya atau membentuk amonia setelah melepaskan atom nitrogen (Murray *et al.*, 1999).

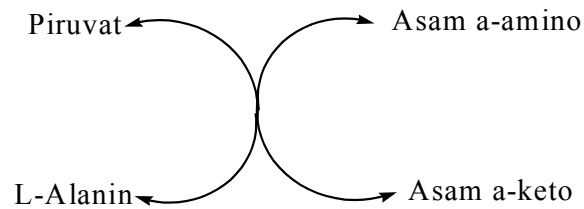
Semua transaminase memiliki gugus prostetik, yaitu piridoksal fosfat (Lehninger, 1982). Piridoksal fosfat merupakan koenzim dan merupakan turunan piridoksin atau vitamin B₆ (Lehninger, 1982; Horton *et al.*, 2002). Piridoksal fosfat berfungsi sebagai senyawa antara, pembawa gugus amino pada sisi aktif transaminase. Selama proses katalitik, molekul ini mengalami perubahan reversibel dalam bentuk aldehid maupun bentuk teraminasi. Dalam bentuk aldehid, piridoksal fosfat, koenzim ini dapat menerima gugus amino, sedangkan dalam bentuk teraminasi, piridoksamin fosfat, dapat memberikan gugus amino kepada α -ketoglutarat (Lehninger, 1982). Mekanisme perpindahan gugus prostetik dalam proses transaminasi ditunjukkan oleh Gambar 5.



Gambar 5. Gugus prostetik transaminase. Piridoksal fosfat (a) dan bentuk teraminasinya piridoksamin fosfat (b) merupakan koenzim yang terikat kuat pada transaminase. (c) Piridoksal fosfat merupakan senyawa pembawa sementara gugus amino di dalam kerja transaminase. E melambangkan protein enzim (Lehninger, 1982).

b. Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) serum

Enzim GPT dikenal dengan nama lain alanin transaminase atau ALT (King, 2004). Enzim GPT mengkatalisis pemindahan gugus amino dari asam piruvat untuk membentuk alanin atau sebaliknya (Murray *et al.*, 1999). Reaksi transaminasi asam piruvat membentuk alanin atau sebaliknya ditunjukkan oleh Gambar 6.



Gambar 6. Piruvat transaminase mengubah asam piruvat menjadi alanin (Murray *et al.*, 1999).

Enzim ini terdapat pada hepar, ginjal, jantung dan sel otot skeletal. Namun, aktivitas enzim yang tertinggi terdapat pada sel hepar (Widijanti, 2001; Anonim, 2004). Menurut Murray *et al.* (1999) GPT merupakan enzim sitosolik. Namun Anonim (2004) menyatakan bahwa enzim ini juga terdapat dalam mitokondria walaupun dalam jumlah sedikit.

Kenaikan kadar enzim GPT dalam serum disebabkan oleh sel-sel yang mengandung enzim ini mengalami nekrosis atau hancur. Enzim yang dikeluarkan sel kemudian masuk ke dalam peredaran darah (Noer, 2002).

Pemeriksaan kadar GPT serum berguna untuk mendiagnosis awal penyakit atau kerusakan pada hepar (Wijaya, 1990; Noer, 2002). Aktivitas enzim transaminase sudah mengalami peningkatan meskipun belum terlihat adanya ikterus. Pada minggu pertama hepatitis akut, aktivitas GPT dapat meningkat sampai di atas 1.000 IU/l, sedangkan angka di atas 1.500 IU/l indikasi hepatitis fulminan (Wijaya, 1990).

Menurut Noer (2002), kadar transaminase serum yang lebih dari 10 kali nilai normal tertinggi mengindikasikan nekrosis hepatoselular yang akut. Pada manusia, nilai normal tertinggi untuk GPT serum adalah sebesar 35 U Karmen (13mU/cc) (Noer, 2002).

5. Tanaman Sambiloto

a. Deskripsi dan Distribusi

Di Indonesia sambiloto dikenal dengan beberapa nama daerah seperti *ki oray*, *takilo* atau *ki peurat* (Sunda); *bidara*, *sadilata* atau *takila* (Jawa) atau *pepaitan* (Melayu). Tanaman ini merupakan anggota famili Acanthaceae dengan nama spesies *Andrographis paniculata* Nees. (Backer dan Van Den Brink, 1965).

Sambiloto tumbuh di wilayah Asia yaitu di India, Sri Lanka, Pakistan dan Indonesia. Di China dan Thailand sambiloto telah ditanam secara ekstensif. Sambiloto banyak hidup pada tempat-tempat dengan ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Sambiloto sering dijumpai tumbuh liar atau ditanam sebagai tanaman obat (Backer dan Van Den Brink, 1965; Kartasapoetra, 1992).

Tanaman berupa herba tegak dengan tinggi 0,5 hingga 1 meter. Batang muda berukuran kecil, berpersegi empat dan tidak berambut atau berbulu. Batang yang sudah tua berkayu dengan pangkal agak membulat. Batang bercabang secara monopodial dan berwarna hijau. Daun tunggal, berbentuk bulat telur hingga menyerupai lidah tombak dengan posisi bersilangan berhadapan. Bagian ujung dan pangkalnya runcing dengan helai daun bertepi rata dengan pertulangan daun menyirip. Bagian atas daun berwarna hijau tua sedangkan bagian bawahnya berwarna hijau pucat. Jika bagian daun dimakan maka terasa sangat pahit (Backer dan Van Den Brink, 1965; Dharma, 1985; Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

Bunga majemuk, kecil berwarna putih dengan garis-garis ungu. Mahkota terdiri atas 5 petala berbentuk tabung, zigomorf dengan ujung menyerupai bibir (de Padua *et. al.*, 1999). Letaknya menyendiri di ketiak atau di ujung malai. Seluruh bunga membentuk bunga malai yang besar. Kelopaknya berbentuk lanset terbagi lima dan pangkalnya berlekatan. Tiap bunga memiliki 2 bulir benang sari. Kepala putik berwarna ungu kecoklatan. Buah berbentuk kotak atau silinder, tegak dengan bagian ujung runcing dan beralur di bagian tengah. Buah muda berwarna hijau setelah tua berwarna hitam. Bijinya berjumlah empat buah yang dapat terlempar ke luar jika buah masak (Backer dan Van Den Brink, 1965; Dharma, 1985; Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

b. Khasiat dan Kandungan Kimia

Sambiloto secara tradisional digunakan sebagai obat penyakit gula, demam, tipes, gatal kulit, obat gigitan ular, antireumatik, sakit kuning dan obat peluntur kehamilan (Heyne, 1975; Kartasapoetro, 1992). Khasiat lainnya adalah sebagai obat penyakit disentri, diare, radang ginjal akut, peradangan sekitar telinga, hidung dan tenggorokan (THT), radang paru-paru dan saluran nafas, influenza, lepra, darah tinggi, raja singa, diuretik, dan kanker (Pringgohusodo, 1986; Dalimartha, 1996). Penelitian secara eksperimental telah membuktikan sambiloto memiliki khasiat antidiabetik (Yulinah dan Fitri, 2001), hepatoprotektor (Rana dan Avadhoot, 1991; Trivedi dan Rawal, 2000), dan antikoagulan (Ruslianti dkk., 2001).

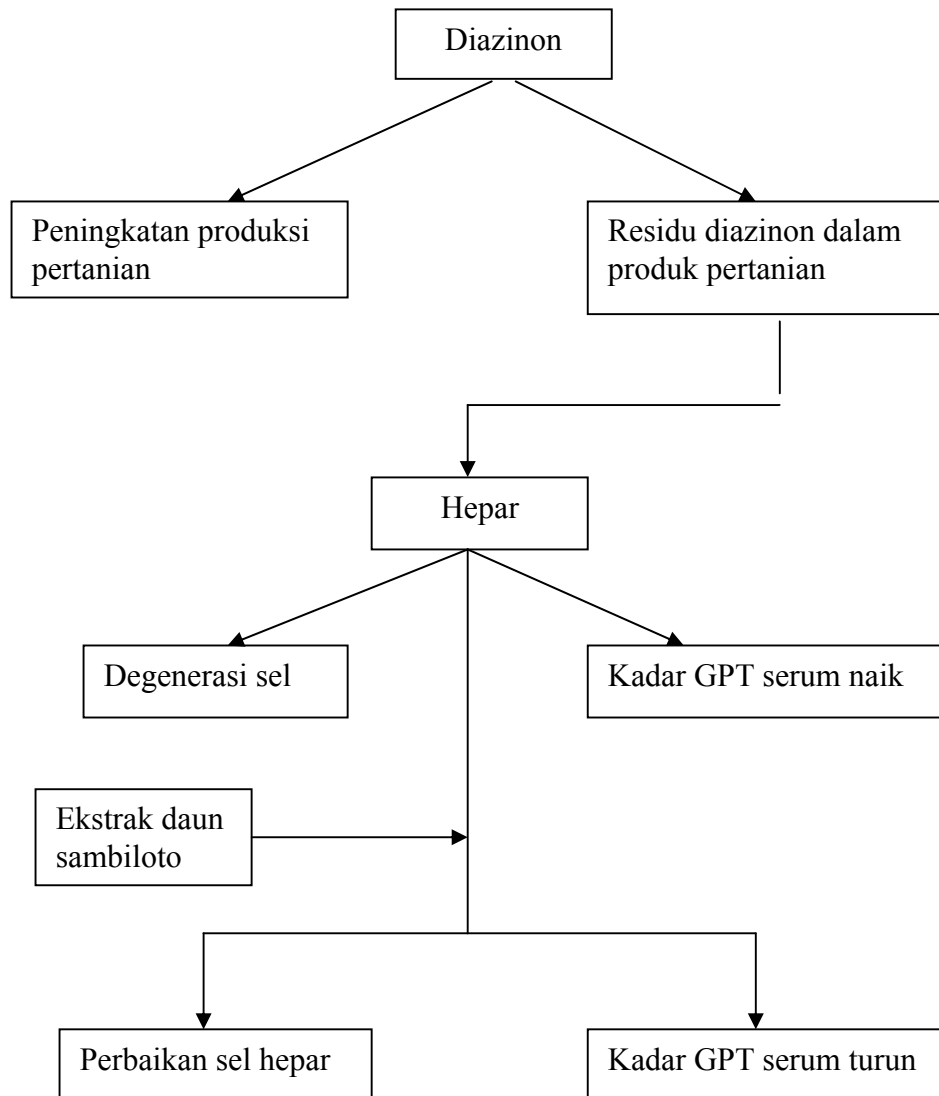
Khasiat sambiloto diduga karena kandungan senyawa kimia di dalamnya. Tanaman sambiloto mengandung senyawa golongan fenol,

flavonoid, terpenoid, alkaloid, kalium, natrium dan asam kersik (Nuratmi dkk., 1996; Widiastuti, 2002). Senyawa kimia yang telah berhasil diisolasi adalah andrografolid, andrografisid, andrograpanin, andropanosid serta andrografidin A, B, C, D, E, dan F (Hanani dkk., 1994; Nuratmi dkk., 1994). Menurut Khan (2001) senyawa kimia yang diduga berperan dalam fungsi perlindungan hati adalah andrografolid.

B. Kerangka Pemikiran

Diazinon merupakan pestisida golongan organofosfat yang telah dilarang penggunaannya oleh pemerintah. Pelarangan ini disebabkan golongan organofosfat adalah senyawa yang dapat menghambat enzim kolinesterase sehingga berbahaya bagi keselamatan manusia. Namun, larangan ini masih diabaikan oleh petani yang dibuktikan dengan masih ditemukannya residu diazinon pada sayuran dan buah-buahan di wilayah Semarang.

Hepar merupakan organ yang berfungsi mendetoksifikasi zat-zat xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh. Masuknya diazinon ke dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan dalam hepar. Sambiloto diketahui memiliki khasiat melindungi hepar, berpeluang untuk mengurangi atau memperbaiki kerusakan hepar yang disebabkan diazinon. Kerangka pemikiran ini disajikan dalam skema pada Gambar 7.



Gambar 7. Skema Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

Hipotesis yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Pemberian EDS dapat memperbaiki kerusakan struktur mikroanatomi hepar mencit yang terpapar diazinon.
1. Pemberian EDS dapat menurunkan kadar GPT serum mencit yang terpapar diazinon.
2. Pemberian EDS pada dosis tertentu dapat memperbaiki kerusakan struktur mikroanatomi hepar dan menurunkan kadar GPT serum mencit yang terpapar diazinon.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan Mei-Juni 2005 di Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM, Pembuatan preparat mikroanatomi di Balai Besar Veteriner, Wates, Yogyakarta dan pengukuran kadar GPT serum di Laboratorium PAU UGM Yogyakarta. Pengamatan hasil struktur mikroanatomi hepar dilakukan di Sub lab Biologi Laboratorium Pusat MIPA UNS Surakarta.

B. Alat dan Bahan

1. Alat yang Digunakan dalam Penelitian

a. Alat Pembuatan Ekstrak

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, pisau, blender, gelas ukur, gelas beker, kertas saring, corong, *rotary evaporator*, oven, pipet ukur, pipet volume, dan desikator.

b. Alat Perlakuan dan Pengambilan Sampel Darah

Alat yang digunakan untuk perlakuan pada hewan uji adalah kandang tikus lengkap dengan tempat makan dan minum serta *canule*. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah adalah tabung mikrohematokrit, tabung effendorf, dan *sentrifuge*.

c. Alat Pembuatan Preparat

Alat yang digunakan adalah *disecting kit*, gelas benda, gelas penutup, cawan petri, kaki tiga dan bunsen, *staining kit*, *holder*, mikrotom, dan *hot plate*.

d. Alat untuk Pengamatan Preparat

Alat yang digunakan untuk mengamati preparat adalah mikroskop cahaya dan kamera.

e. Alat untuk Analisis GPT Serum

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer dengan panjang gelombang 365 nm.

2. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

a. Hewan Uji

Mencit jantan galur Swiss sebanyak 20 mencit dengan umur dua bulan dengan berat badan rata-rata 20-30 g yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM.

b. Bahan yang Digunakan untuk Pembuatan Larutan Percobaan

Daun sambiloto diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawang Mangu, Karang Anyar, Surakarta. Diazinon dari PT. Petrokimia Gresik. Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak adalah etanol 95%. Ekstrak daun sambiloto dilarutkan dalam CMC 1%, sebelum diberikan kepada hewan uji.

c. Bahan untuk Pembuatan Preparat Mikroanatomi

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat mikroanatomi hepar adalah kloroform, formalin 10%, garam fisiologis, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%), toluol, xylol, meyers albumin, canada balsam, parafin, pewarna Hematoxylin-Eosin, dan akuades.

d. Bahan untuk Analisis GPT Serum

Bahan untuk analisis GPT serum adalah seperangkat tes GPT kit kualitas pro analisis dari Dyasis Germany.

C. Cara Kerja

1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan lima macam perlakuan dan empat kali ulangan untuk tiap perlakuan.

2. Persiapan Hewan Uji

Mencit diaklimasi terlebih dahulu selama satu minggu di dalam kandang metabolik. Hal ini bertujuan untuk mengadaptasikan hewan uji terhadap lingkungan laboratorium dan perlakuan yang akan diberikan.

3. Pembuatan Ekstrak

Daun yang telah dibersihkan dari kotoran, dicuci dengan akuades lalu dikeringanginkan selama satu malam. Selanjutnya, daun dimasukkan ke dalam oven bersuhu 37°- 40°C sampai daun menjadi kering. Daun yang telah kering, kemudian dipotong kecil dan diblender. Serbuk daun yang diperoleh dari hasil pembレンダーan, kemudian dimaserasi dengan larutan etanol 95% selama 24 jam. Setelah itu disaring, filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu maksimal 60°C. Ekstrak basah yang diperoleh dari proses ini, kemudian dikeringkan dalam desikator hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering ini kemudian digunakan untuk perlakuan kepada hewan uji (Yulinah, 2001).

4. Pembuatan Larutan Percobaan

Dosis EDS yang diberikan dalam penelitian ini berdasarkan penelitian Rana dan Avadhoot (1991) yang dimodifikasi. Dosis yang digunakan adalah 1/10 LD50, yaitu 180 mg/Kg BB tikus. Untuk hewan uji mencit dengan angka konversi 0,14 maka dosis yang digunakan adalah sebesar 25,2 mg/Kg BB. Dosis ini kemudian divariasikan 0,5; 1 dan 1,5 kali lipatnya, sehingga masing-masing dosis adalah 12,6; 25,2 dan 37,8 mg/Kg BB. Dosis Diazinon yang diberikan kepada hewan uji pada percobaan ini berdasarkan penelitian Ngabekti (2000) yaitu sebesar 40 mg/Kg BB.

Larutan CMC 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram CMC dalam akuades sampai mengembang dan digerus hingga homogen, kemudian ditambahkan akuades sampai volume total 100 ml. Larutan CMC 1% digunakan sebagai kontrol plasebo dan pelarut EDS.

5. Pengelompokan Hewan Percobaan

Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu pemberian CMC 1%, pemberian diazinon 40 mg/Kg BB, pemberian diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 12,6 mg/Kg BB (kelompok III) ; 25,2 (kelompok IV) dan 37,8 mg/Kg BB (kelompok V). Pemberian CMC 1%, diazinon dan EDS dilakukan masing-masing selama sepuluh hari. Rancangan percobaan perlakuan untuk tiap kelompok disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan

Perlakuan hari ke-	Kelompok Perlakuan				
	I	II	III	IV	V
1	x	v	v	v	v
2	x	v	v	v	v
3	x	v	v	v	v
4	x	v	v	v	v
5	x	v	v	v	v
6	x	v	v	v	v
7	x	v	v	v	v
8	x	v	v	v	v
9	x	v	v	v	v
10	x	v	v	v	v
11	x	-	*	**	***
12	x	-	*	**	***
13	x	-	*	**	***
14	x	-	*	**	***
15	x	-	*	**	***
16	x	-	*	**	***
17	x	-	*	**	***
18	x	-	*	**	***
19	x	-	*	**	***
20	x	-	*	**	***

Keterangan: x = pemberian 0,5 ml CMC 1%

v = pemberian 0,5 ml larutan diazinon 40 mg/Kg BB

* = pemberian 0,5 ml EDS 12,6 mg/Kg BB

** = pemberian 0,5 ml EDS 25,2 mg/Kg BB

*** = pemberian 0,5 ml EDS 37,8 mg/Kg BB

6. Pengambilan Serum Darah dan Organ Hepar

Pengambilan serum darah dan organ hepar untuk kelompok perlakuan I, III, IV, dan V dilakukan satu hari setelah hari terakhir perlakuan, yaitu hari ke dua puluh satu. Untuk kelompok perlakuan II, pengambilan serum darah dan organ hepar dilakukan satu hari setelah hari terakhir perlakuan, yaitu hari ke sebelas.

Hewan uji dipuasakan terlebih dahulu sebelum diambil darahnya dari vena supraorbitalis. Darah yang diperoleh ditampung dalam tabung effendorf kemudian disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit hingga

diperoleh cairan bening kekuningan. Cairan ini kemudian digunakan dalam pengukuran kadar GPT mencit.

Pengambilan organ hepar dilakukan setelah pengambilan darah, hewan dikorbankan terlebih dahulu kemudian dilakukan pembedahan tubuh mencit pada bagian ventral untuk mengambil organ heparnya. Hepar yang diperoleh kemudian difiksasi dalam lautan formalin 10%.

a. Pembuatan Preparat Mikroanatomi Hepar

Pembuatan preparat mikroanatomi hepar dilakukan dengan metode parafin. Tahapan metode ini meliputi proses: fiksasi, pencucian (*washing*), dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi parafin, penanaman (*embedding*), penyayatan (*section*), penempelan (*affixing*), deparafinasi, pewarnaan (*staining*), penutupan (*mounting*), dan *labelling* (Suntoro, 1983).

b. Analisis Kadar Glutamat Transaminase (GPT) Serum

Metode yang digunakan untuk analisis kadar GPT serum memakai metode UV *test* dari IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) Mekanisme reaksi pembentukan warna pada pemeriksaan aktivitas enzim GPT dapat dinotasikan sebagai berikut:



*Alanin tansaminase

**Laktat dehidrogenase

1). Komponen dan Konsentrasi Reagen

i). Reagen 1 (R1) terdiri atas:

Tris* buffer pH 7,8	100 mmol/l
L-alanin	500 mmol/l
LDH	1200 U/l

*TRIS = Tris(hidroksimetil)-aminometan

ii). Reagen 2 (R2) terdiri atas:

NADH ₂	0,18 mmol/l
2-ketoglutarat	15 mmol/l

2). Prosedur Pengujian

i). Persiapan Uji

Larutan R2 sebanyak 5 ml diambil dengan menggunakan mikropipet 1000 µl lalu dicampurkan dengan 20 ml larutan R1. Larutan ini kemudian digoyang-goyangkan sehingga tercampur dengan sempurna. Larutan ini kemudian disebut sebagai sampel *start*. Larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.

ii). Pengujian sampel

Sampel serum darah mencit sebanyak 100 µl ditambah 1000 µl larutan sampel *start*. Larutan kemudian digoyang-goyangkan selama satu menit agar percampuran terjadi secara merata. Setelah itu dibaca absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 365 nm. Absorbansi yang dibaca tercatat sebagai data awal. Selanjutnya *stop watch* dinyalakan, pembacaan absorbansi dilakukan tiap menit

selama 3 menit sejak *stop watch* dinyalakan. Selanjutnya dihitung selisih pembacaan antara data awal menit 1, menit 1 sampai menit ke-2, menit ke-2 dengan menit ketiga. Hasilnya kemudian dirata-rata diberi notasi ΔA .

iii). Penentuan kadar GPT serum

Kadar GPT serum dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar GPT serum} = 3235 \times \Delta A \text{ U/l}$$

Keterangan : ΔA = rata-rata selisih nilai absorbansi

C. Analisis Data

1. Data yang Diperoleh dari Pengamatan Preparat Hepar

Data yang diperoleh dari pengamatan preparat struktur mikroanatomi hepar dianalisis secara deskriptif kemudian diklasifikasikan menurut Metode Mitchel (Gufron, 2001), yaitu:

- : Tidak ada kerusakan/ normal
- + : Kerusakan hepatosit mencapai 25% dalam satu bidang pandang
- ++ : Kerusakan hepatosit mencapai 50% dalam satu bidang pandang
- +++ : Kerusakan hepatosit mencapai 75% dalam satu bidang pandang.

2. Data yang Diperoleh dari Hasil Pengukuran Kadar GPT Serum

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar GPT serum dianalisis secara statistik menggunakan analisis of varian (Anava) yang dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf signifikansi 5%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Diazinon adalah pestisida golongan organofosfat yang banyak digunakan dalam usaha pemeliharaan tanaman. Penggunaannya seringkali berlebihan sehingga dapat menimbulkan residu dalam produk pertanian. Konsumsi buah-buahan atau sayuran yang mengandung residu pestisida mengakibatkan masuknya senyawa xenobiotik ke dalam tubuh dan menimbulkan kerusakan pada jaringan tubuh.

Dalam keadaan normal, tubuh mampu mengeliminasi senyawa xenobiotik melalui proses detoksifikasi. Namun, terjadinya bioaktivasi senyawa xenobiotik menghasilkan radikal bebas atau dosis senyawa xenobiotik yang melampaui kemampuan tubuh melakukan detoksifikasi akan menyebabkan terjadinya toksisitas senyawa xenobiotik (Schunack *et al.*, 1990; Murray *et al.*, 1999).

Pada penelitian ini dosis diazinon diberikan selama sepuluh hari. Pemberian diazinon selama sepuluh hari dapat menyebabkan akumulasi senyawa ini dalam tubuh dan melampaui kemampuan tubuh melakukan detoksifikasi sehingga memicu terjadinya mekanisme toksisitas senyawa xenobiotik.

Diazinon yang masuk ke dalam tubuh akan berikatan dengan makromolekul sel mengakibatkan perubahan pada membran sel sehingga sel tidak mampu lagi melakukan pengaturan permeabilitas membran. Sodeman dan Sodeman (1991) menyatakan bahwa perubahan pada membran sel akibat senyawa xenobiotik dapat mengakibatkan terjadinya kenaikan permeabilitas membran sel sehingga kerentanan sel meningkat dan membran sel mudah rusak. Akibatnya,

pemberian diazinon pada tingkat mikroskopik dapat menimbulkan kerusakan yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan struktur sel. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Suarini dkk., 1996 dalam Ngabekti dan Isnaeini (2000) yang menyatakan bahwa pemberian diazinon 60 mg/Kg BB selama 5 hari pada tikus terbukti menyebabkan kerusakan struktur mikroanatomi hepar, berupa kongesti, piknosis, dan nekrosis.

Hepar sebagai organ utama yang bertanggung jawab melakukan proses detoksifikasi merupakan organ yang paling rentan terhadap kerusakan sel. Kerusakan pada hepar dapat dilihat melalui gambaran struktur mikroanatomi maupun perubahan biokimia, seperti kenaikan kadar enzim hepar dalam serum (Donatus, 1992).

A. Struktur Mikroanatomi Hepar

Irisan hepar yang digunakan untuk pembuatan preparat diambil dari lobus sebelah kanan. Hal ini bertujuan untuk memperoleh gambaran struktur mikroanatomi yang relatif seragam. Gambaran mikroanatomis hepar masing-masing kelompok percobaan kemudian diamati di daerah sekitar vena sentralis dengan perbesaran 40 x 10 di bawah mikroskop. Hasil pengamatan ini kemudian diklasifikasikan tingkat kerusakan hepatositnya menurut metode Mitcel (Gufron, 2001) dan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian masing-masing perlakuan percobaan.

Kelp. Perlk.	Hepatosit					Sinusoid	Vena sentralis
	Degenerasi hidropik	Degenerasi lemak	Inti piknotik	Karyoreksis	Karyolisis		
I	-	-	-	-	-	-	-
II	+++	+++	+++	++	++	Dilatasi	Konstriksi
III	+++	++	+	++	++	-	-
IV	++	-	-	+	+	-	-
V	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

- : tidak ada kerusakan/normal
- + : Kerusakan hepatosit mencapai 25% dalam satu bidang pandang
- ++ : Kerusakan hepatosit mencapai 50% dalam satu bidang pandang
- +++ : Kerusakan hepatosit mencapai 75% dalam satu bidang pandang.

Dari tabel di atas, maka dapat diketahui terjadi kerusakan pada struktur mikroanatomi hepar setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB (kelompok II). Kerusakan hepatosit mencakup degenerasi hidropik dan degenerasi lemak sebesar 75% dalam satu bidang pandang, inti piknotik sebesar 75% dalam satu bidang pandang dan karyoreksis dan karyolisis sebesar 50% dalam satu bidang pandang. Sinusoid mengalami dilatasi, sedangkan vena sentralis mengalami konstriksi.

Pemberian EDS diketahui memberikan gambaran struktur mikroanatomi hepar yang mengalami perbaikan. Pada kelompok III, hepar masih mengalami kerusakan sama seperti pada kelompok II, hanya saja tidak terjadi perubahan struktur pada sinusoid dan vena sentralis. Degenerasi lemak dan inti piknotik pada kelompok ini juga mengalami penurunan dibandingkan pada kelompok II, yaitu sebesar 50% dan 25% dalam satu bidang pandang.

Pemberian dosis EDS yang semakin tinggi memberikan gambaran struktur mikroanatomi yang semakin baik. Hal ini ditunjukkan oleh gambaran mikroanatomi hepar pada kelompok IV dan V. Kelompok IV mengalami

kerusakan yang semakin kecil dari jenis maupun persentasenya dalam satu bidang pandang, yaitu degenerasi hidropik sebesar 50% dan karyoreksis serta karyolisis sebesar 25%, sedangkan pada kelompok V hepar hanya mengalami degenerasi hidropik sebesar 25% dalam satu bidang pandang.

1. Kelompok Perlakuan Kontrol (Pemberian larutan CMC 1%)



Gambar 8. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian larutan CMC 1%.

Perbesaran: 400 x

Pewarnaan: HE

Keterangan:

a. vena sentralis

b. hepatosit normal

c. inti hepatosit

d. hepatosit binukleat

e. sinusoid

f. sel Kupffer

Struktur mikroanatomi hepar kelompok kontrol terlihat teratur. Hepatosit tersusun radier dari vena sentralis hingga ke tepi lobulus. Sel berbentuk polihedral dengan batas yang jelas. Nukleus berada di tengah sel dan berwarna lebih gelap, sedangkan sitoplasma terpulas merah. Kadang-kadang terdapat hepatosit dengan inti berjumlah 2 buah. Organel-organel

yang mengisi sel membuat sitoplasma tampak bergranula. Diantara sel hepar terdapat sinusoid yang memisahkan sel hepar yang satu dengan sel hepar lainnya. Pada kelompok kontrol sinusoid terlihat agak sempit dengan beberapa sel kupffer.

2. Kelompok Perlakuan Diazinon 40 mg/Kg BB



Gambar 9. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB

Perbesaran: 400 x

Pewarnaan: HE

Keterangan:

- | | |
|------------------------|------------------------|
| a. vena sentralis | g. degenerasi hidropik |
| b. hepatosit normal | h. vakuola lemak |
| c. inti hepatosit | i. inti piknotik |
| d. Hepatosit binukleat | j. karyoreksis |
| e. sinusoid | k. karyolisis |
| f. sel Kupffer | |

Hepar yang mendapat perlakuan diazinon 40 mg/Kg BB tampak mengalami perubahan pada struktur mikroanatominya. Susunan hepatosit

terlihat tidak teratur dan terpisah-pisah oleh sinusoid yang mengalami dilatasi. Menurut Ressang (1984), pelebaran sinusoid dapat terjadi karena adanya desakan pada dindingnya akibat terjadinya pembendungan pada vena oleh zat toksik. Pembendungan vena biasanya dimulai dari vena sentralis (ditunjukkan dengan kondisi vena sentralis yang mengalami konstriksi) lalu ke bagian tengah lobulus hepar. Penyebab lain terjadinya dilatasi sinusoid mungkin disebabkan terjadinya degenerasi lemak yang parah sehingga terbentuk vakuola lemak secara merata. Vakuola lemak ini menimbulkan banyak ruang kosong, sehingga jarak antar sinusoid menjadi lebih lebar (dilatasi) dibandingkan sinusoid pada kelompok kontrol (normal). Selain mengalami dilatasi sinusoid, hasil pengamatan struktur mikroanatomi hepar menunjukkan hepatosit mengalami degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan nekrosis.

Degenerasi hidropik ditandai dengan ukuran sel yang membesar dari ukuran sel normal. Pada keadaan yang parah terbentuk vakuola berisi cairan, sehingga sitoplasma tampak kasar. Degenerasi hidropik terjadi karena hidrasi ion natrium akibat permeabilitas dinding sel yang terganggu akibat mekanisme toksisitas senyawa xenobiotik. Selain itu, terjadi gangguan pada metabolisme energi di dalam sel, terutama mekanisme transpor aktif pada Na^+/K^+ -ATP-ase. Akibatnya hepatosit tidak mampu memompa ion natrium ke luar dari sel. Jumlah ion natrium dalam sel yang berlebihan menyebabkan influks air yang hebat sehingga sebagian organel sitoplasma seperti RE dapat diubah menjadi kantong-kantong berisi air (Price *and* Wilson, 1984). Menurut

Anderson (1980) degenerasi hidropik merupakan fase pertama dalam proses degenerasi sel. Degenerasi ini masih bersifat *reversible* (Himawan, 1983).

Degenerasi lemak pada gambar 9 terlihat merata pada semua bagian lobulus. Pada kondisi degenerasi lemak yang parah akan terbentuk vakuola lemak dalam sel sehingga mendesak inti sel ke arah tepi. Degenerasi lemak dapat terjadi karena terganggunya metabolisme lemak, seperti adanya gangguan terhadap fungsi mitokondria, hipoksia yang menghambat oksidasi asam lemak yang masuk ke dalam sel atau dapat pula disebabkan malnutrisi protein sehingga mengganggu sintesis *lipid acceptor protein* yang membawa lipid keluar dari sel. Jika degenerasi lemak terus berlangsung, maka hepatosit dapat mengalami nekrosis (Sudiono dkk., 2003).

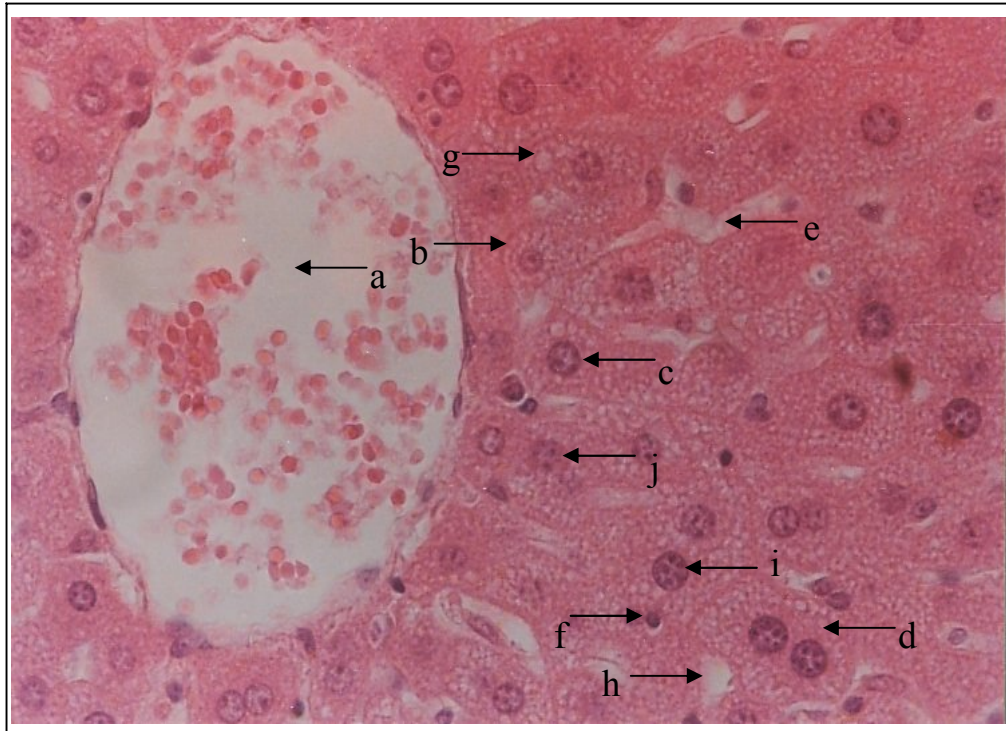
Pada percobaan ini diazinon yang termasuk golongan pestisida organofosfat diduga dapat menyebabkan degenerasi lemak dengan cara mengganggu fungsi mitokondria. Menurut Zimmerman dalam Cassaret *and* Doull (1975) zat toksik seperti karbon tetraklorida dan fosfat dapat menyebabkan gangguan pada fungsi beberapa organel sel seperti pada mitokondria, retikulum endoplasma, dan lisosom. Fungsi mitokondria dalam mekanisme selular tubuh salah satunya adalah dalam metabolisme lemak. Gangguan pada fungsi mitokondria akan menyebabkan sintesis dan sekresi lemak tidak seimbang akibatnya lemak akan terakumulasi dalam sel parenkim hepar.

Menurut Price *and* Wilson (1984) nekrosis terjadi melalui tiga tahap, yaitu piknotik, karyoreksis, dan karyolisis. Inti piknotik ditandai dengan inti

hepatosit yang terpulas lebih gelap dari inti sel hepatosit yang normal. Warna gelap ini akibat kromatin memadat menjadi massa basofil yang solid sehingga menyerap warna basofilia lebih banyak. Karyoreksis pada gambar 9 ditandai dengan penghancuran inti dengan meninggalkan pecahan-pecahan yang tersebar di dalam sel, sedangkan pada karyolisis inti menjadi hilang sehingga pada gambar tampak sebagai sel yang kosong. Terganggunya fungsi sel oleh zat xenobiotik menyebabkan pecahnya lisosom sehingga mengeluarkan enzim hidrolitik ke dalam sel. Enzim ini kemudian melarutkan kromatin sehingga menyebabkan karyolisis.

Gambaran struktur mikroanatomi hepar yang diberikan EDS pada tiga variasi dosis setelah paparan diazinon terlihat pada gambar 10, 11, dan 12.

3. Kelompok Perlakuan Diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 12,6 mg/Kg BB



Gambar 10. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 12,6 mg/Kg BB.

Perbesaran: 400 x

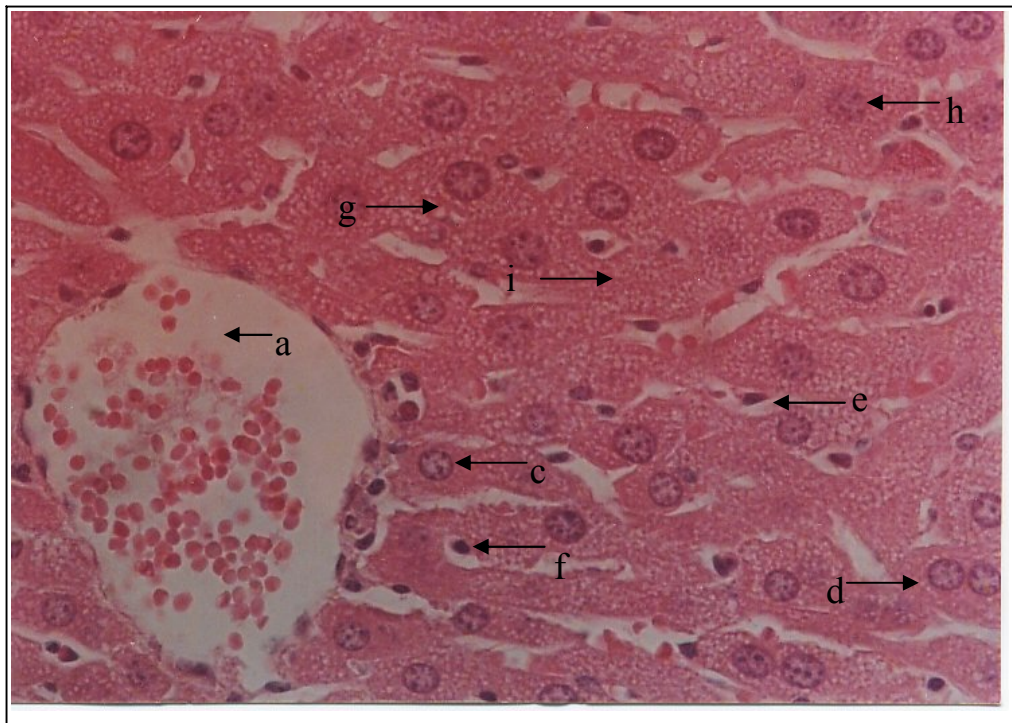
Pewarnaan: HE

Keterangan:

- | | |
|------------------------|------------------------|
| a. vena sentralis | g. degenerasi hidropik |
| b. hepatosit normal | h. vakuola lemak |
| c. inti hepatosit | i. inti piknotik |
| d. Hepatosit binukleat | j. karyoreksis |
| e. sinusoid | k. karyolisis |
| f. sel kupffer | |

Gambaran struktur mikroanatomi pada kelompok ini menunjukkan hepar masih mengalami kerusakan akibat toksisitas senyawa diazinon. Hal ini ditunjukkan dengan adanya degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan nekrosis pada hepatosit, walaupun persentasenya berkurang dibandingkan kerusakan pada kelompok I (Tabel 2.).

4. Kelompok Perlakuan Diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan 25,2 mg/Kg BB



Gambar 11. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 25,2 mg/Kg BB

Perbesaran: 400 x

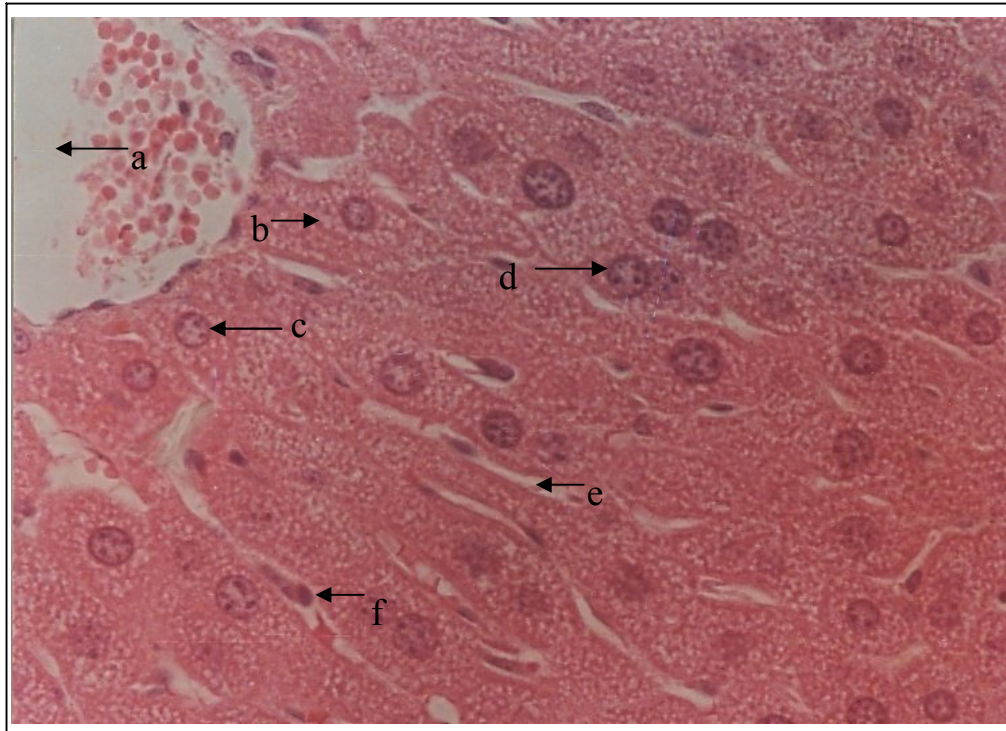
Pewarnaan: HE

Keterangan:

- | | |
|------------------------|------------------------|
| a. vena sentralis | f. sel kupffer |
| b. hepatosit normal | g. degenerasi hidropik |
| c. inti hepatosit | h. karyoreksis |
| d. Hepatosit binukleat | i. karyolisis |
| e. sinusoid | |

Berdasarkan gambaran struktur mikroanatomi hepar pada kelompok ini, dapat diketahui kerusakan yang masih terdapat pada hepatosit adalah degenerasi hidropik, karyoreksis dan karyolisis. Sementara itu, degenerasi lemak dan piknosis tidak terlihat pada gambaran struktur hepar.

5. Kelompok Perlakuan Diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 37,8 mg/Kg BB



Gambar 12. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 37,8 mg/Kg BB

Perbesaran: 400 x

Pewarnaan: HE

Keterangan:

a. vena sentralis

b. hepatosit normal

c. inti hepatosit

d. hepatosit binukleat

e. sinusoid

f. sel Kupffer

g. degenerasi hidropik

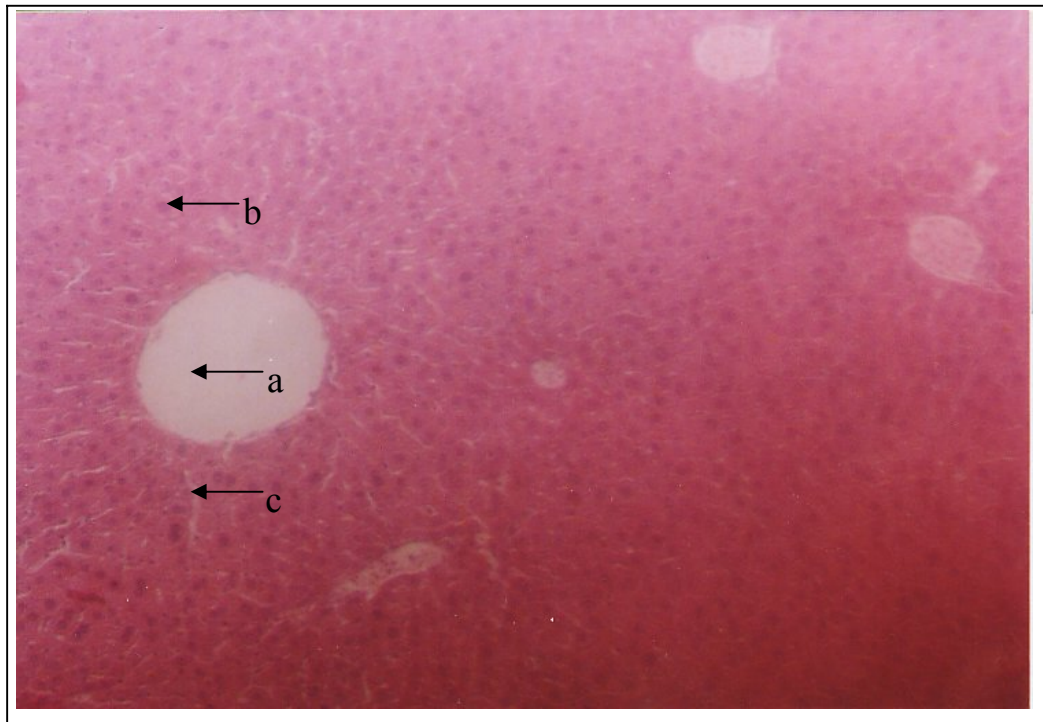
Berdasarkan gambaran struktur mikroanatomi hepar di atas, dapat diketahui bahwa kelompok ini mengalami kerusakan hepatosit paling sedikit, yaitu degenerasi hidropik.

Berdasarkan pengamatan pada gambaran struktur mikroanatomi hepar dapat diketahui tingkat perbaikan struktur mikroanatomi oleh pemberian EDS meningkat seiring dengan meningkatnya variasi dosis. Gambaran struktur mikroanatomi hepar kelompok dosis 12,6 mg/Kg BB menunjukkan kelompok

ini masih mengalami kerusakan akibat pengaruh diazinon. Kerusakan yang dialami hepar hampir sama dengan kelompok II, hanya saja memiliki persentase yang lebih kecil (Tabel 2.). Pada kelompok IV, hepar makin berkurang kerusakan pada hepatositnya, baik dari jenis kerusakan maupun persentase kerusakannya. Tetapi masih dijumpai nekrosis pada hepatosit, yaitu karyoreksis dan karyolisis. Hal ini mungkin disebabkan dosis EDS yang digunakan belum mampu mengembalikan struktur hepar kembali normal.

Struktur mikroanatomi hepar yang menunjukkan perbaikan mendekati normal adalah kelompok yang diberi perlakuan EDS 37,8 mg/Kg BB. Walaupun mengalami degenerasi hidropik, namun hanya dalam jumlah yang kecil, yaitu 25% dalam satu bidang pandang (Tabel 2.). Hal ini mungkin disebabkan dosis EDS yang diberikan mampu mengembalikan fungsi normal sel sehingga struktur sel kembali pada keadaan normal.

Setelah mengamati perubahan yang terjadi pada hepatosit dengan menggunakan perbesaran 400x di bawah lensa mikroskop, pengamatan kemudian dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 100x untuk mengamati perubahan yang terjadi pada vena sentralis. Gambaran struktur mikroanatomi hepar perbesaran 100x kemudian disajikan pada gambar 13 sampai dengan 17.

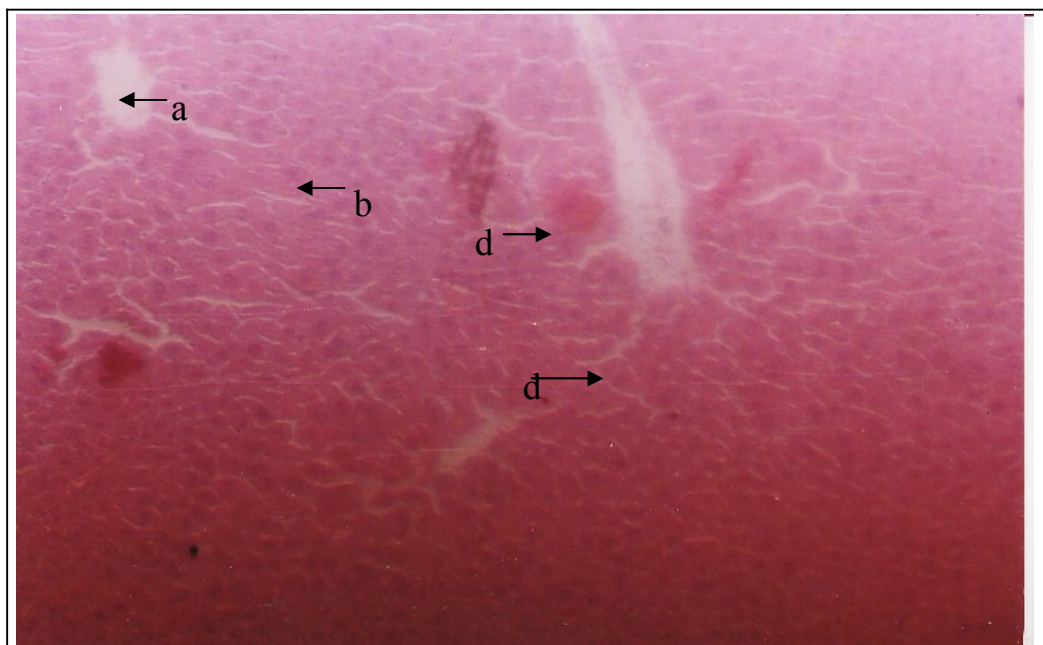


Gambar 13. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian larutan CMC 1%

Perbesaran: 100 x

Pewarnaan: HE

Keterangan: a. vena sentralis normal b. inti hepatosit c. sinusoid



Gambar 14. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB

Perbesaran: 100 x

Pewarnaan: HE

Keterangan: a. vena sentralis mengalami konstiksi b. inti hepatosit c. sinusoid d. kongesti

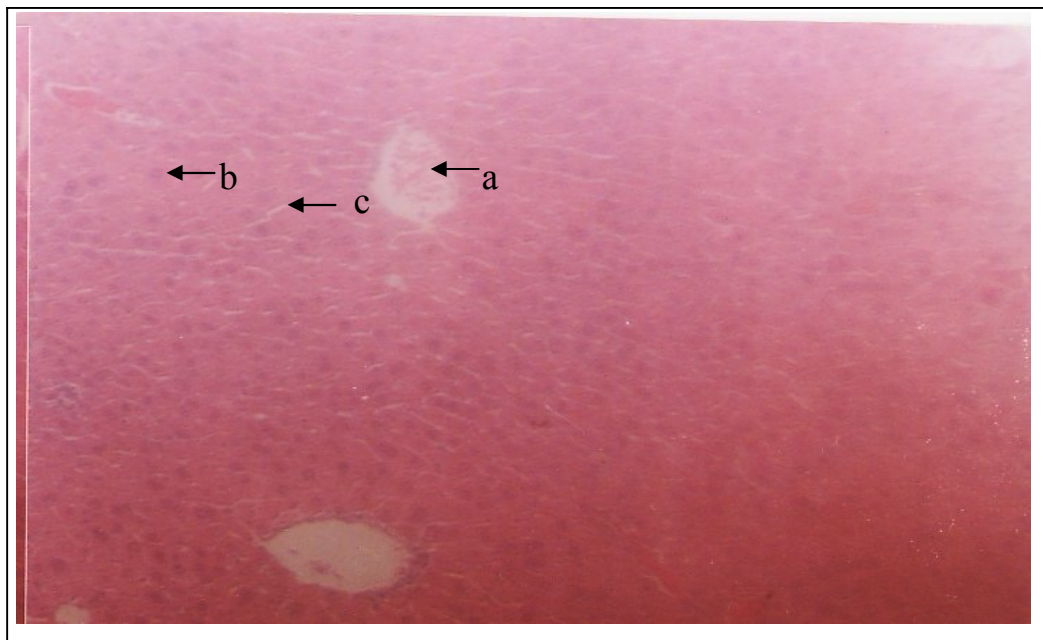


Gambar 15. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 12,6 mg/Kg BB.

Perbesaran: 100 x

Pewarnaan: HE

Keterangan : a. vena sentralis normal b. inti hepatosit c. sinusoid

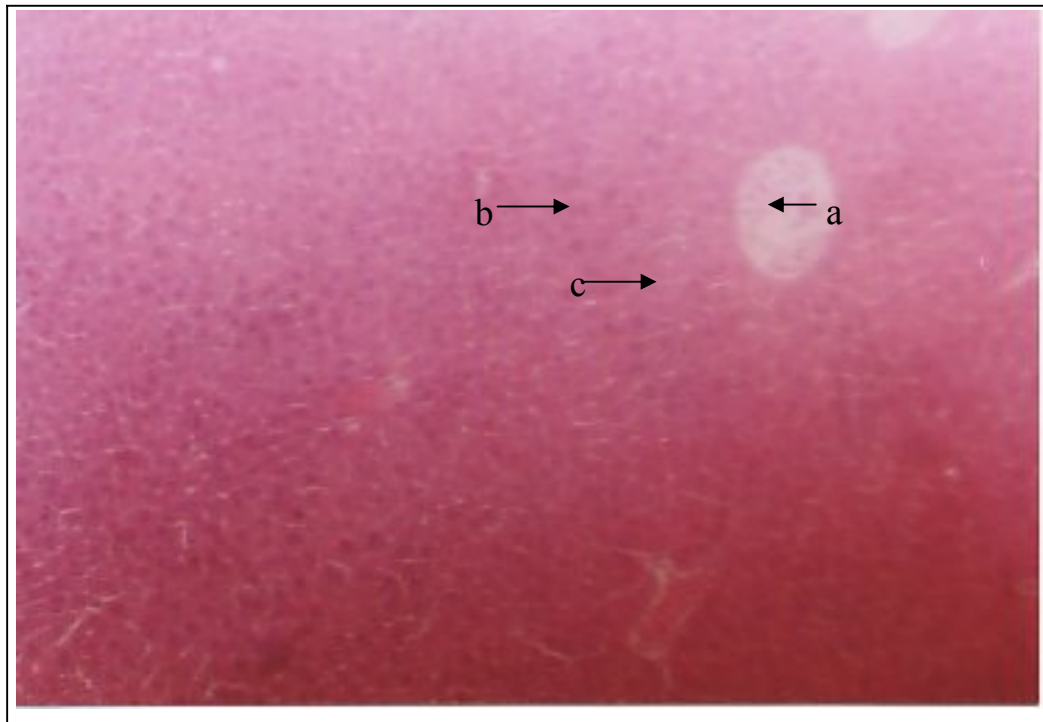


Gambar 16. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 25,2 mg/Kg BB.

Perbesaran: 100 x

Pewarnaan: HE

Keterangan : a. vena sentralis normal b. inti hepatosit c. sinusoid



Gambar 17. Struktur mikroanatomi hepar mencit setelah setelah pemberian larutan diazinon 40 mg/Kg BB dilanjutkan EDS 37,8 mg/Kg BB.

Perbesaran: 100 x

Pewarnaan: HE

Keterangan: a. vena sentralis normal b. inti hepatosit c. sinusoid

Bersadarkan pengamatan dari gambaran tiap kelompok perlakuan, dapat diketahui perubahan pada vena sentralis hanya terjadi pada kelompok yang diberikan diazinon 40 mg/Kg BB. Vena sentralis pada kelompok ini mengalami penyempitan (konstriksi) dan kongesti hepatosit di dekat vena sentralis bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain.

Konstriksi pada vena sentralis diduga disebabkan oleh terjadinya pembendungan pembuluh darah oleh akumulasi dan toksisitas diazinon. Pembendungan pembuluh darah ini kemudian mengakibatkan kongesti yang ditunjukkan dengan banyaknya bercak-bercak merah pada hepatosit di sekitar vena sentralis. Ressang (1984) menyatakan kongesti dapat disebabkan oleh

senyawa kimia yang secara tiba-tiba menghentikan peredaran darah, sehingga terjadi bendungan pembuluh darah pada hepar. Akibat dari terhentinya peredaran darah secara tiba-tiba adalah terjadinya bendungan pada hepar dan menyebabkan timbulnya aliran darah yang berlebihan di bagian tertentu pada hepar, yang tampak pada gambaran mikronatomi sebagai bercak-bercak merah. Menurut Thomas (1988) secara mikroskopis, kongesti terjadi pertama kali pada vena sentralis, sedangkan kerusakan hepatosit biasanya terlihat pada pertengahan lobuli.

Mekanisme perbaikan struktur hepatosit oleh sambiloto sepenuhnya belum diketahui. Pemberian sambiloto diduga dapat mengurangi toksisitas diazinon, karena senyawa aktif andrografolid dalam tanaman ini dapat meningkatkan kadar glutathion hepar yang berperan dalam konjugasi senyawa diazinon. Sambiloto juga memiliki zat antioksidan, yaitu flavonoid yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi yang dipicu oleh radikal bebas dari zat xenobiotik, dalam hal ini diazinon. Adanya efek pengurangan toksisitas diazinon oleh senyawa aktif dalam ekstrak akan memberikan kesempatan sel hepar untuk melakukan regenerasi. Regenerasi ini yang kemudian menggantikan sel-sel hepar yang rusak dengan sel yang baru, sehingga pada pengamatan mikroskopis, struktur mikroanatomi hepar kembali terlihat mendekati normal. Dalimartha (1999) menyatakan bahwa salah satu mekanisme kerja obat hepatoprotektif adalah dengan meningkatkan kemampuan hepar untuk melakukan regenerasi sel.

B. Kadar GPT Serum Mencit (*Mus musculus* L.)

Pengukuran kadar GPT serum mencit dilakukan pada hari terakhir perlakuan. Untuk kelompok perlakuan yang diberikan larutan diazinon 40 mg/Kg BB GPT serum diukur pada hari kesebelas, sedangkan kelompok kontrol plasebo (pemberian CMC 1%) dan kelompok perlakuan yang diberikan EDS dalam tiga variasi dosis GPT serum diukur pada hari kedua puluh satu. Data rata-rata kadar GPT serum mencit yang diperoleh disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata kadar GPT serum mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian masing-masing perlakuan percobaan.

Kelompok Perlakuan	Kadar GPT serum (IU/l)
I	22,3025 ^a
II	31,8625 ^b
III	26,2525 ^c
IV	24,2025 ^d
V	22,2525 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf superscript yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata.

Berdasarkan hasil analisis varian (anava) dan uji DMRT pada taraf signifikansi 5% diketahui bahwa masing-masing kelompok perlakuan berbeda nyata (Tabel 3, Lampiran 2). Kelompok kontrol plasebo memiliki kadar GPT serum sebesar 22,3025 IU/l, kelompok perlakuan yang diberikan diazinon 40 mg/Kg BB sebesar 31,8625 dan kelompok perlakuan EDS berturut-turut sebesar 26,2525; 24,2025 dan 22,2525 IU/l.

Perlakuan pada kelompok kontrol plasebo dilakukan dengan pemberian larutan CMC 1%. Hal ini bertujuan untuk mengetahui efek CMC sebagai pensuspensi EDS terhadap kadar GPT serum. CMC diduga tidak berpengaruh

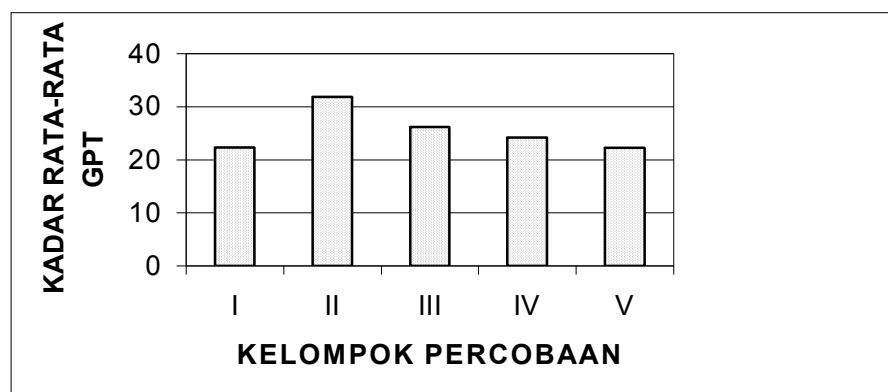
terhadap kadar GPT serum mencit. CMC merupakan serbuk putih higroskopis yang non toksik, tidak dicerna maupun tidak diabsorpsi (Delgado, 1982), sehingga dalam hal ini CMC tidak berpengaruh terhadap GPT serum mencit. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) kadar GPT normal serum mencit berkisar antara 2,1-23,8 IU/l. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, kadar GPT kelompok normal yang diperoleh masih berada dalam kisaran tersebut.

Kelompok perlakuan yang diberikan larutan diazinon 40 mg/Kg BB memiliki kadar GPT serum paling tinggi, yaitu sebesar 31,8625 IU/l. Menurut Koay *and* Walmsley (1989) adanya kenaikan kadar GPT antara 2 sampai 10 kali nilai normal menunjukkan terjadinya hepatitis kronis pada hepar. Hal ini didukung oleh Widmann (1994) yang menyatakan bahwa peningkatan kadar GPT serum dapat digunakan sebagai alat diagnostik dalam menentukan kerusakan hepar secara umum. Kenaikan kadar enzim GPT dalam serum disebabkan oleh sel-sel yang mengandung enzim ini mengalami nekrosis atau hancur. Enzim yang dikeluarkan sel kemudian masuk ke dalam peredaran darah (Noer, 2002). Kriteria terjadinya peningkatan kadar GPT dalam penelitian ini dilakukan dengan membandingkannya dengan kelompok kontrol.

Peningkatan kadar GPT serum disebabkan pengaruh diazinon. Masuknya diazinon melalui jalur saluran pencernaan akan bermuara pada vena porta yang ada pada hepar. Dalam hepar diazinon mengalami bioaktivasi menjadi metabolit yang reaktif. Pemberian diazinon selama sepuluh hari menyebabkan akumulasi kandungan senyawa xenobiotik ini didalam sel sehingga sel tidak mampu lagi

mendetoksifikasinya. Akibatnya hepar mengalami kerusakan atau nekrosis dan mengeluarkan kandungan enzimnya ke peredaran darah.

Pemberian EDS selama sepuluh hari mampu menurunkan kadar GPT serum mencit yang telah terpapar diazinon (Tabel 3., Lampiran 2.). Perlakuan EDS pada berbagai dosis, menunjukkan penurunan kadar GPT serum yang sebanding dengan kenaikan dosis. Semakin besar dosis EDS yang diberikan maka penurunan kadar GPT serum semakin mendekati kelompok normal (Tabel 3., Gambar 18.). Dosis yang paling efektif menurunkan kadar GPT serum adalah dosis 37,8 mg/Kg BB. Perlakuan ini memiliki kadar rata-rata GPT serum yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol plasebo (Tabel 3., Lampiran 2.). Dosis EDS yang semakin besar diduga mengandung senyawa aktif penurun kadar GPT yang semakin besar.



Gambar 18. Grafik rata-rata kadar GPT serum mencit setelah pemberian masing-masing perlakuan.

Penelitian terdahulu mengenai pengaruh pemberian ekstrak sambiloto terhadap tikus yang diinduksi heksaklorosiklon (BHC) telah dilakukan oleh Trivedi and Rawal (2000). Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak sambiloto dapat menurunkan kadar enzim alanin aminotransferase (ALT), aspartat

aminotransferase (AST), alkali fosfatase, dan peroksidasi lipid yang meningkat karena toksisitas BHC. Penurunan kadar enzim dan peroksidasi lipid setelah pemberian ekstrak daun sambiloto diduga karena meningkatnya kadar glutathione.

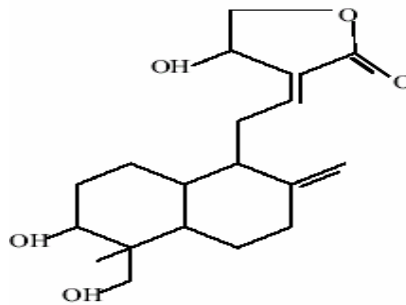
Glutathione berperan penting dalam proses detoksifikasi senyawa xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh. Kongshvan (1995) menyatakan bahwa glutathione mendetoksifikasi senyawa xenobiotik melalui 2 cara, yaitu:

1. Glutathione berperan sebagai antioksidan yang melindungi sel dari serangan radikal bebas. Glutathione dalam bentuk tereduksi memiliki potensial redoks yang besar sehingga potensial untuk dapat menangkap elektron dari radikal bebas. Selain itu, gugus sulfhidril yang dimilikinya berfungsi sebagai donor elektron yang dapat berikatan dengan elektron tak berpasangan yang dimiliki radikal bebas.
2. Glutathione membentuk komponen senyawa xenobiotik yang lebih larut dalam air sehingga mudah diekskresikan melalui urin atau empedu. Jika senyawa xenobiotik yang potensial beracun tidak terkonjugasi, maka senyawa ini dapat berikatan kovalen dengan makromolekul sel dan menyebabkan kerusakan.

Berdasarkan hasil penelitian ini, Trivedi *and* Rawal (2000) menyimpulkan bahwa sambiloto bekerja memperbaiki kerusakan organ hepar akibat toksisitas BHC dengan cara meningkatkan status enzim antioksidan, yaitu glutathione.

Kemampuan memperbaiki struktur mikroanatomi hepar dan menurunkan kadar GPT serum oleh EDS diduga karena komponen aktif yang terdapat dalam

daun sambiloto. Menurut Khan (2001) salah satu komponen kimia yang berperan dalam hal ini adalah andrografolid (Gambar19.).



Gambar 19. Struktur kimia andrografolid

Kamdem *and* Ho (2002) melakukan penelitian terhadap senyawa aktif andrografolid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa diterpen lakton andrografolid berfungsi sebagai *scavenger* radikal bebas senyawa: superoksida (O_2^-), 2,2'-azino-bis(3-etilbenziazolin-6-asam sulfat) dan 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil. Kemampuan *scavenging* radikal bebas ini diduga yang menyebabkan andrografolid dapat mengurangi patologi hewan yang mengalami intoksikasi dan diabetik.

Kamdem *and* Ho (2002) menggolongkan andrografolid ke dalam antioksidan pemutus rantai. Murray *et al.* (1999) menyatakan bahwa antioksidan digolongkan dalam 2 kelas, yaitu antioksidan preventif, yang mengurangi kecepatan reaksi peroksidasi lipid dan antioksidan pemutus rantai, yang memutuskan reaksi berantai peroksidasi lipid.

Struktur andrografolid yang memegang peranan penting dalam mekanisme ini adalah hidrogen alilik pada atom karbon C-11. Berdasarkan konsepsi ini, diduga andrografolid menjadi *scavenger* radikal bebas dengan mendonasikan

hidrogen aliliknya untuk berpasangan dengan elektron tak berpasangan dari radikal bebas.

Selain andrografolid sambiloto juga mengandung flavonoid. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang merupakan salah satu golongan antioksidan, suatu senyawa kimia yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi yang dipicu oleh radikal bebas. Sultana *et al.* (1995) menyatakan aktivitas hepatoprotektif suatu senyawa obat seringkali berkaitan dengan sifat senyawa tersebut sebagai agen antioksidan dan *scavenger* radikal bebas, sedangkan Karandikhar *et al.* dalam Ahmad *et al.* (2002) menyatakan bahwa banyak obat dengan efek hepatoprotektif mampu melindungi hepar dari kerusakan yang ditimbulkan oleh serangan radikal bebas.

Wijayanti dkk. (2004) melaporkan bahwa pemberian flavonoid mampu melindungi molekul protein sel dari serangan radikal bebas CCl_4 . Hal ini didukung oleh Hanasaki *et al.* (1994) yang menyatakan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dan pengkelat logam. Cadenas dan Lester dalam Harun dan Syahri (2002) menambahkan bahwa aktivitas antioksidan flavonoid dilakukan dengan mereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil.

Yang *et al.* (2001) telah melakukan penelitian dan menyimpulkan bahwa aktivitas antioksidan flavonoid tergantung pada potensial oksidasi senyawa tersebut dan struktur kimia flavonoid yang berperan dalam aktivitas antioksidan adalah struktur O-dihidroksi pada cincin B, ikatan rangkap pada C_2 dan C_3 yang terkonjugasi dengan gugus okso dan adanya gugus hidroksil.

Berdasarkan hasil dalam penelitian ini, kadar GPT serum menurun setelah pemberian EDS dalam berbagai variasi dosis. Hal ini menunjukkan EDS memiliki kemampuan menangkap radikal bebas yang dipicu oleh pemberian diazinon. Seperti telah diketahui, radikal bebas yang berada dalam tubuh mampu berikatan dengan komponen seluler sel sehingga menimbulkan nekrosis. Pada hepar, kerusakan sel akan menyebabkan terjadinya pengeluaran isi sitoplasma ke dalam sistem peredaran, dalam hal ini enzim GPT. Akibatnya, kadar GPT serum akan mengalami peningkatan. Pemberian EDS dapat menurunkan kadar GPT serum, karena mengandung senyawa antioksidan andrografolid dan flavonoid, yang dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan oleh diazinon.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian EDS dosis 12,6 mg/Kg BB; 25,2 mg/Kg BB dan 37,8 mg/Kg BB dapat memperbaiki kerusakan struktur mikroanatomi hepar berupa: degenerasi hidropik, degenerasi lemak, inti piknotik, karyoreksis, karyolisis, dilatasi sinusoid dan konstiksi vena sentralis.
2. Pemberian EDS dosis 12,6 mg/Kg BB; 25,2 mg/Kg BB dan 37,8 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar GPT serum mencit yang terpapar diazinon.
3. Dosis EDS dalam penelitian ini yang paling efektif memperbaiki kerusakan struktur mikroanatomi hepar dan menurunkan kadar GPT serum mencit yang terpapar diazinon adalah dosis 37,8 mg/Kg BB.

B. SARAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dapat dilanjutkan berbagai penelitian yang mendukung antara lain:

1. Pengukuran kadar enzim hepar lainnya yang berkaitan dalam proses detoksifikasi zat-zat xenobiotik.
2. Penelitian efek samping/toksisitas daun sambiloto untuk menjaga keamanan penggunaanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, G. Anwar, M and Khan, N.A. 2002. "Studi of hepatoprotective effect of a non-pharmacopoeical unani compound drug in patients of viral hepatitis. *Hamdard Medicus*.3(XLV):115-118.
- Abubakar, M. 1985. *Evaluasi Penyakit-penyakit Hati*. dalam Simposium Penyakit-penyakit Hati. FK UNDIP. Semarang.
- Agency of Toxic Substances and Disease Registry.1996. *Toxicological Profile for Diazinon*. Agency of Toxic Substances and Disease Registry. North Carolina.
- Amstrong, F. B. 1995. *Buku Ajar Biokimia*. (diterjemahkan oleh R.F. Mulany). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Anderson, W. A. D. 1980. *Synopsis of Pathology*. The C.V. Mosby Comp. London.
- Anonim. 2004. Transaminase enzyme activities.
http://www.biokemia.sote.hu/ob_tanag_en/ob_gya_en/ob_biokem_jegyzet_transzaminase_e.htm. [6 Februari 2005]
- Backer, C. A. and Van Den Brink, R. C. B., 1965. *Flora of Java*. Jilid IIb. N. V. P. Noordhoff. Gronigen. The Neatherlands.
- Bhattacharyya, D., Mukherjee, R., Pandit, S., Das, N., and Sur, T. K. 2003. "Prevention of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats by Himoliv, a polyherbal formulation". *Indian J Pharmacol*. 35:183-185.
- Cassaret, L. J. and Doull, J. 1975. *Toxicology: The Basic Science of Poisons*. MacMillan Publishing Co., Inc. New York.
- Dalimartha, S. 1999. *Ramuan tradisional untuk Pengobatan Hepatitis*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Dalimartha, S. 1996. *Ramuan Tradisional untuk Diabetes Melitus*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Date, S., Sakharkar, P., and Dhawane, V. 1999. "Hepatoprotective drugs from plants". *Hamdrad Medicus*.22-25

- de Padua, L. S., Bunyapraphatsara, N. dan Lemmens, R. H. M. J (editor). 1999. *Plant Resources of South East Asia. Medical and Poisons Plants*. Buckhuys Publisher. Leiden. The Netherlands.
- Delgado, J.N. 1982. "Karbohidrat". Buku Teks Wilson dan Gisvold. *Kimia Farmasi dan Medisinal Organik I*. (Diterjemahkan oleh AM Fattah). IKIP Press Semarang.
- Dharma, A. P. 1985. *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*. PN. Balai Pustaka. Jakarta.
- Donatus, I. A. 1992. Fitofarmaka Penyakit Hati. *Kumpulan Naskah Lengkap. Simposium Gastrohepatologi*. Yogyakarta.
- Gandhi, R. and Snedeker, S. M., 1999. "Critical evaluation of diazinon's breast cancer risk". *Critical Evaluation*. 10:1-25. Cornell University. New York. <http://www.cfe.cornell.edu/bcerf/>[25 Desember 2004].
- Garner, R. J. 1961. *Veterinary Toxicology The Basic Science of Poisons*. Mc Millin Publishing Co. Inc. New York.
- Gitawati, R. 1995. Radikal Bebas: Sifat dan Peran dalam menimbulkan Kerusakan sel. *Cermin Dunia Kedokteran*. No. 102. 33-39.
- Gufron, M. 2001. "Gambaran Struktur Histologi Hepar dan Ren Mencit setelah Pemberian Perlakuan Infus Akar Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dengan dosis bertingkat". *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 9(1):72-88.
- Guyton, A. C. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Hakim, L. 2002. *Uji Farmakologi dan Toksikologi Obat Alam pada Hewan Coba*. Dalam Prosiding Seminar Herbal Medicine di Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Tanggal 26 Januari 2002.
- Hanani, B. dkk. 1994. *Informasi beberapa penelitian farmakologi dan penggunaannya dalam obat tradisional*. dalam prosiding Seminar Nasional VI Tumbuhan Obat Indonesia. Bandung.
- Hanasaki, Y., Ogawa S., and Fukui, S. 1994. "The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effect of Flavonoids". *Free Radical Biol. Med.* 16: 845-850.

- Harun, N. dan Syahri, W. 2002. "Aktivitas antioksidan ekstrak daun *Gynura precumbens* (Lour.) Merr.) dalam menghambat sifat hepatotoksik halotan dengan dosis subanestesi pada mencit". *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 2(7): 63-70.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Balitbang Kehutanan. Jakarta.
- Himawan, S. C. (Editor). 1994. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Bagian Patologi Anatomi FKUI. Jakarta.
- Horton, H. R., Moran, L. A., Rawn, J. D., dan Scrimgeour, K. G. 2002. *Principles of Biochemistry*. Pearson Education Upper Saddle River. New Jersey.
- Howland, J.L. 1975. *Environmental Cell Biology*. Benjamin Inc. W. A. Calitrinia.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., and Kelley, R.O. 1998. *Histologi Dasar*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kamdem, R.E. and Ho, C.T. 2002. Transfer Allylic Hydrogen as the Antioxidant Mechanism of Diterpene Lactone Andrographolide. Anahaeim. http://ift.confex.com/ift/2002/technprograme/paper_13567.html. [1 September 2005]
- Kartasapoetra, G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. PT. Rineka Cipta. Jakarta.
- Khan, M.T.H. 2001. "Traditional medicines and plant drugs in hepatic diseases". *Hamdrad Medicus*. 14-16.
- King, M.W. 2004. Medical Biochemistry. <http://web.indstate.edu/thcme/mwking/nitrogen-metabolism.html>. [6 Februari 2005]
- Koay, E. S. C., and Walmsley, R. N. 1989. *Handbook of Chemical Pathology*. PG Publ. Singapore.
- Koeman, J. H. 1987. *Pengantar Umum Toksikologi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Kongshavn, P.A.L. 1995. The Science of Glutathione. http://www.nutrionadvisor.com/Glutathione_info.htm [1 September 2005]
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. (diterjemahkan oleh Maggy Thenawidjaja). Penerbit Erlangga. Jakarta.

- Lesson, C. R., Lesson, T. S., and Papparo, A. A. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Lestariana, W. 2003. Peran Antioksidan pada Proses Penuaan. *BNS*. 1(7). 1-5.
- Mangunsudirdjo, S., Ghozali, A., Harijadi, Utoro, T. 2001. *Buku Kuliah Patologi Umum*. Edisi 1. Bagian Patologi Anatomi FK UGM. Yogyakarta.
- Martini, I. H. and Bartholomew, E. F. 2000. *Essential of Anatomy and Physiology*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey.
- McEwen F. L. dan Stephenson, G. R. 1979. *The Use and Significance of Pesticides in Environment*. John Wiley and Sons, New York.
- Montgomery, J. H. 1993. *Diazinon: In Agrochemicals Desk Reference*. Lewis Publisher. Boca Raton.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., dan Rodwell, V.W. 1999. *Biokimia Harper*. (diterjemahkan oleh Andry Hartono). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Nemensanszky, I., Donal, W. M., and Rosalki, S. B. 1996. *Enzyme Test in Diagnosis*. Arnold Oxford University Press, Inc. New York.
- Ngabekti, S. 1998. "Residu pestisida pada sayuran yang dipasarkan di Kodya Semarang". *Laporan Penelitian*. IKIP Semarang.
- Ngabekti, S dan Isnaeni, W. 2000. "Pemanfaatan kurkumin untuk mengeliminir pengaruh diazinon terhadap kerusakan hati mencit (*Mus musculus* L.)". *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 1(7):24-34.
- Noer, H. M. S.(Editor). 2002. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Nuratmi, B., Adjirni, dan Paramita, D. I. 1996. "Beberapa penelitian farmakologi sambiloto". *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 3(1).
- Paramita, D. K. dan Moeljopawiro, S. 1997. "Pengaruh Pemberian Diazinon 60 EC Per oral terhadap Aktivitas Enzim Kolinesterase Plasma Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.)". *Biologi*. 2(3): 115-128.
- Price, S. A. dan Wilson, L. M. 1984. *Patofisiologi: Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit Bagian I*. (diterjemakan oleh Adji Dharmawan). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Pringgohusodo. 1986. *Jamu-jamu Peninggalan Nenek Moyang dari Madura*. Penerbit Nurcahya. Yokyakarta.
- Rana A. C., dan Avadhoot, Y. 1991. "Hepatoprotective effect of *Andrographis paniculata* againts carbon tetrachloride induced liver damage". *Arch Pharm Res*. 14:(1).93-95.
- Ramulu, U. S. S. 1979. *Chemistry of Insecticides and Fungicides*. Mohan Primlany, Oxford and IBH ublishing Co. New Delhi.
- Ressang, A. A. 1984. *Patologi Khusus Veteriner Edisi 2*. N. V Percetakan. Bali.
- Ruslianti, T., Kosela, S., Hudiyo, S., dan Wahyoedi, B. 2001. "Uji aktivitas waktu beku darah senyawa andrografolid, ekstrak eter dan ekstrak metanol dari daun sambiloto (*Andrographis paniculata*)". *Ebers Papyrus*. 7(4):248-261.
- Sastroutomo, S. S. 1992. *Pestisida Dasar-Dasar dan Dampak Penggunaannya*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Schunack, V., Mayer, K., dan Haake, M. 1990. *Senyawa Obat: Buku Pelajaran Kimia Farmasi*. (diterjemahkan oleh Joke R. Wattimena dan Sriwoelan Soebito). UGM Press. Yogyakarta.
- Sloane, E. 1994. *Anatomy and Physiology: An Easy Learner*. Jones and Bartlett Publishers Int. London.
- Smith, J.B., and Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Penerbit UI Press. Jakarta.
- Sodeman, W.A. dan Sodeman T.M. 1991. *Patofisiologi* (Alih Bahasa: Andryhartono). Penerbit Hipokrates. Jakarta.
- Soedarmo, S. 1988. *Pestisida Tanaman*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Soetarno, S., Sukandar, E. Y., Sukrasno, Yuwono, A. 2000. "Aktivitas hipoglisemik ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.)". *JMS*. 4(2):62-69.
- Spector, T. D., dan Spector, W. G. 1993. *Pengantar Patologi Umum*. Gadjah Mada University. Yogyakarta.
- Sultana, S., Pervez, S., Iqbal. M., and Ather, M. 1995. "Hepatoprotective activity of *Trichopus zeylanicus* extract against paracetamol induced hepatic damage in rats". *J. Etnopharmacol* (45):189-192.

- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan*. Penerbit Bharata Karya Aksara. Jakarta.
- Sudiono, J. B., Kurniadhi, Hendrawan, A., dan Djinantoro, B. 2003. *Ilmu Patologi*. Penerbit EGC. Jakarta.
- Syamsuhidayat, S. S. dan Hutapea, J. R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Balitbang Kesehatan Depkes R.I. Jakarta.
- Thomas, C. 1988. *Histologi*. (diterjemahkan oleh H. Tonang, L. Widjaya dan L. Libertus). Penerbit EGC. Jakarta.
- Trivedi, N. and Rawal, U. M. 2000. "Hepatoprotective and toxicological evaluation of *Andrographis paniculata* on severe liver damage". *Indian J Pharmacol* . 32:288-293.
- Udupa, V., Kulkarni, K. S., Rafiq, M., Gopumadhavan, S., Venakataranganna, M. V., and Mitra, S. K. 2000. "Effect of HD-03 on levels of various enzyme in paracetamol-induced lever damage in rats". *Indian J Pharmacol*. 32:361-364.
- WHO. 1998 *Enviromental Health Criteria for Diazinon*. World Health Organization. Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc198.htm>. [6 Januari 2005]
- Widiastuti, T. 2002. "Efek infusa daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap pembuluh darah sistemik kucing teranestesi dan skrining fitokimianya". *Skripsi*. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.
- Widijanti, A. 2004. "Pemeriksaan laboratorium penyakit hati dan saluran empedu". *Medika*.30: 601-603.
- Widyaningrum, Y., dan Wijoyo, Y. 2004. "Efek hepatoprotektif kombinasi jus wortel dan apel hijau pada mencit jantan terinduksi parasetamol". *Sigma* 2(7). 173-181.
- Wijaya, A. 1990. *Diagnosis Laboratorik Penyakit Hati*. Program Pustaka Prodia Seri Hepatitis.
- Wijayanti, A.D., Tato, S., dan Mangkoewidjojo, S. 2003. "Pengaruh antioksidan flavonoid terhadap kadar protein mikrosomal hati tikus yang diinduksi dengan karbontetraklorid". *J. Sain Vet*.2(21). 18-21.
- Worthing, C. R. 1991. *Diazinon: In The Pesticide Manual*. The British Crop Protection Council. Lavenham.

- Yang B., Kotani, A., Arai , K., and Kusu, F. 2001. "Estimation of the antioxidant of flavonoids from their oxidation potentials". *Analytical Sciences*. Vol. 17. 599-604.
- Yulinah, E., Sukrasno dan Fitri, M. A., 2001. "Aktivitas antidiabetika etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.)". *JMS* 6(1): 13-20.
- Zein, U., Purba, A., Ginting, Y., dan Pandjaitan, B. 2002. *Beberapa aspek keracunan di bagian penyakit dalam rumah sakit H. Adam Malik, Medan*. <http://www.tempo.co.id/medika/arsip/052002/art-2.htm>. [6 Januari 2005].

Lampiran 1. Tabulasi Kadar GPT serum mencit pada hari terakhir perlakuan

Kelompok Percobaan	Ulangan	Kadar GPT serum (IU/l)
I	1	22.37
	2	22.17
	3	22.27
	4	22.40
II	1	31.88
	2	32.04
	3	31.62
	4	31.91
III	1	26.35
	2	26.06
	3	26.22
	4	26.38
IV	1	24.24
	2	24.05
	3	24.37
	4	24.15
V	1	22.20
	2	22.46
	3	22.11
	4	22.24

Lampiran 2. Uji Anava dan DMRT Kadar GPT serum Mencit Oneway

Descriptives

kadar GPT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	4	22.3025	.1044	5.218E-02	22.1364	22.4686	22.17	22.40
2.00	4	31.8625	.1759	8.797E-02	31.5825	32.1425	31.62	32.04
3.00	4	26.2525	.1459	7.296E-02	26.0203	26.4847	26.06	26.38
4.00	4	24.2025	.1360	6.799E-02	23.9861	24.4189	24.05	24.37
5.00	4	22.2525	.1486	7.432E-02	22.0160	22.4890	22.11	22.46
Total	20	25.3745	3.6563	.8176	23.6633	27.0857	22.11	32.04

Test of Homogeneity of Variances

kadar GPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.140	4	15	.965

ANOVA

kadar GPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	253.691	4	63.423	3057.251	.000
Within Groups	.311	15	2.075E-02		
Total	254.002	19			

Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

kadar GPT

Duncan^a

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
5.00	4	22.2525			
1.00	4	22.3025			
4.00	4		24.2025		
3.00	4			26.2525	
2.00	4				31.8625
Sig.		.631	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Lampiran 2. Metode Parafin

Pembuatan sediaan struktur mikroanatomi dilakukan dengan pembuatan preparat *section* dengan metode parafin menurut Suntoro (1983), yaitu:

1. *Fixasi* (Fiksasi)

Potongan jaringan dimasukkan ke dalam botol-botol flakon yang sudah berisi larutan fiksatif (formalin 10%) yang volumenya minimal 10 x besar potongan jaringan selama lebih kurang 4 jam.

2. *Washing* (Pencucian)

Pencucian potongan jaringan dengan alkohol 70% karena fiksatif yang digunakan adalah larutan formalin.

3. *Dehydrasi* (Dehidrasi)

Molekul air dihilangkan dari jaringan, kemudian dipindahkan dalam alkohol dengan persentase semakin tinggi, yaitu 80%, 90%, 96%, masing-masing selama dua kali selama 30 menit.

4. *Clearing* (Penjernihan)

Proses ini meliputi penggantian molekul alkohol dengan toluol/toluene. Potongan jaringan dipindahkan ke dalam botol yang berisi toluol hingga jaringan menjadi transparan.

5. *Infiltrasi Parafin*

Infiltrasi dilakukan dalam oven dengan temperatur 55-58°C. Gelas Erlenmeyer diisi xilol dan parafin dengan perbandingan 1:1, kemudian dengan deretan parafin murni I, II dan III, potongan jaringan dipindahkan berturut-turut ke dalam gelas Erlenmeyer, masing-masing selama setengah jam.

6. *Embeding* (Penanaman)

Parafin cair dituangkan ke dalam kotak-kotak yang telah dibuat (1 x 1 x 2 cm²), dengan cepat potongan jaringan dipindahkan ke dalam parafin cair, letak potongan jaringan diatur menurut rencana pemotongan. Blok diberi label.

7. *Sectioning* (Penyayatan)

Blok-blok parafin kemudian disayat menggunakan scalpel sedemikian rupa sehingga permukaan yang akan disayat dengan pisau mikrotom berbentuk segi empat, semua sisinya sejajar. Blok parafin diletakkan pada holder kayu sehingga melekat erat, dengan cara, sedikit parafin dicairkan dengan spatel logam pada holder dan blok parafin diletakkan padanya hingga tidak goyah lagi, diberi label. Holder bersama blok parafin dipasang pada *rotary microtom* dan dimantapkan. Tempat pita preparat disiapkan pada suatu kotak karton, serta *coups* dari pisau mikrotom diambil dengan kuas. Tebal *coups* disetel 6 mikrometer.

8. *Affixing* (Penempelan)

Gelas benda diusap dengan *Meyers* albumin untuk melekatkan *coups* pada gelas benda. Akuades ditetaskan. Sejumlah *coups* diletakkan di atas akuades. Gelas benda diletakkan di atas *hot plate* bersuhu 40-45°C, letak *coups* diatur, direntangkan bila terlipat. Dibiarkan di atas *hot plate* hingga kering.

9. *Staining* (Pewarnaan)

Setelah *coups* kering, sebelum dilakukan pewarnaan harus dilakukan deparafinisasi dengan cara gelas benda direndam dalam larutan xilol minimal 15 menit, kemudian diulangi pada larutan xilol yang kedua selama 5 menit. Selanjutnya diwarnai dengan *Hematoxylin Eosin* dengan urutan xilol diisap dengan kertas penghisap, dicelupkan dalam alkohol 95%, 90%, 80%, 60%, 50%, 30%, akuades masing-masing beberapa kali hingga akhirnya ke dalam *Erlich Hematoxylin* selama 3 sampai 7 detik. Dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Dichelup dalam akuades, alkohol 30%, 50%, 60%, 70% beberapa celupan kemudian dicelupkan dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96% beberapa celupan, dikeringkan dengan kertas filter, dimasukkan ke xilol selama 15 menit. *Coups* diambil dari larutan xilol dan ditetesi dengan enthelan, ditutup dengan gelas penutup, dikeringkan di atas *hot plate* dan diberi label.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan kemuliaan atas ilmu pengetahuan. Atas izin dan pertolongan_Nya, penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul **”Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus musculus* L.) yang Terpapar Diazinon”**. Penyusunan naskah skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. Marsusi, M.S., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Drs. Wiryanto, M.Si., sebagai Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta.
3. Drs. Kusumo Winarno, M.Si., sebagai Pembimbing Akademis yang telah memberikan arahan selama penyelesaian studi penulis.
4. Dra. Marti Harini, selaku Pembimbing I, yang telah membimbing dan mengarahkan dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi.
5. Shanti Listyawati, M.Si., selaku Pembimbing II, yang telah membimbing dan mengarahkan dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi.
6. Artini Pangastuti, M.Si., sebagai Penguji I, yang telah banyak memberi masukan dan saran dalam penyusunan skripsi.
7. Tjahjadi Purwoko, M.Si., sebagai Penguji II, yang telah banyak memberi masukan dan saran dalam penyusunan skripsi.
8. Seluruh staf Sub kab Biologi Laboratorium Pusat MIPA yang telah memberi kemudahan dan bantuan selama penelitian di laboratorium.
9. Seluruh staf UPHP UGM yang telah membantu pelaksanaan teknis penelitian di laboratorium.

10. Bapak Giyono (BPTO), Bapak Suroso (UPHP), Bapak Suwardi (Lab. Anatomi Hewan UGM), Bapak Yuli (Lab. PAU UGM) dan Bapak Dian (Balai Besar Veteriner, Wates Yogyakarta) yang telah membantu pelaksanaan penelitian.
11. Rekan-rekan Biologi angkatan 1999, 2000 dan 2001 atas kebersamaan di perkuliahan maupun di laboratorium.
12. Ikhwah fillah, pejuang keadilan dan kesejahteraan di mana pun berada: Untuk Indonesia lebih baik, Insya Allah!!!!
13. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan dan penyusunan naskah skripsi ini.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP PENULIS

Penulis dilahirkan pada tanggal 29 OKTOBER 1980 di Jakarta. Tahun 1993 penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 06 Petang. Selanjutnya, penulis meneruskan pendidikan di SMPN 212, Jakarta Selatan tamat pada tahun 1996 dan menamatkan pendidikan di SMUN 28 Ragunan, Jakarta Selatan pada tahun 1999. Penulis memulai pendidikan perguruan tinggi di Jurusan Biologi pada tahun 1999 dan lulus tahun 2006.

Selama menempuh perkuliahan, penulis aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMABIO) sebagai staf Departemen Penalaran dan Keilmuan periode 2000-2001; Ketua Departemen Pengembangan Keilmuan periode 2001-2002, Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA sebagai sekretaris Bidang PSDM periode 2001-2002; Ketua Bidang PSDM periode 2002-2003 dan Partai Mahasiswa, yaitu Partai Gerbang. Penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Agama Islam, Struktur Perkembangan Hewan I, dan Fisiologi Hewan.